

Université du Québec
Institut National de la Recherche Scientifique
Centre Armand-Frappier Santé Biotechnologie

AUGMENTATION DE L'ABSORPTION DE L'AZOTE ORGANIQUE PAR LE BLÉ EN AUGMENTANT LE RATIO CHAMPIGNON : BACTÉRIE

Par
Emmy L'Espérance

Mémoire présenté pour l'obtention du grade de
Maître ès Sciences (M.Sc.)
en sciences de Microbiologie appliquée

Jury d'évaluation

Président du jury et
Examineur interne

Philippe Constant
INRS-AFSB

Examineur externe

Pierre-Luc Chagnon
Agriculture Canada

Directeur de recherche

Étienne Yergeau
INRS-AFSB

REMERCIEMENTS

J'aimerais spécialement remercier mon directeur de recherche Étienne Yergeau pour son enthousiasme et son soutien tout au long de ce projet. Il m'a permis de plonger dans l'univers de la recherche et d'apprécier chaque moment. Je suis énormément chanceuse et reconnaissante de continuer mon parcours universitaire sous sa supervision.

Un énorme merci au Laboratoire Yergeau (nouvellement mECO : LABS), qui est l'équipe la plus enthousiaste et à l'écoute. Sans cet accueil chaleureux, je n'aurais jamais réussi ce projet en temps de pandémie mondiale. Sans nos dîners pizza et nos soirées karaoké, ces deux années de maîtrise seraient passées beaucoup moins rapidement.

Merci à Jessica et Harriet, qui ont toujours répondu à mes questions sans jugement et qui ont su m'écouter dans mes petits (gros) moments de détresse (3 ways RM-ANOVA et les oies mangeuse de blé). Je suis chanceuse d'avoir trouvé des amies et collègues en or comme vous et je vous remercie encore une fois pour tout le temps que vous avez passé à m'aider et à arracher les mauvaises herbes.

Pour finir, j'aimerais remercier tous mes amis et ma famille, qui ont su me soutenir et m'accompagner dans ce périple qu'est la recherche scientifique. Une mention spéciale au « trio initial », Josiane Hawkins et Sandrine Beauregard, qui ont été présentes tout au long de mon parcours universitaire et qui ont su apporter de la joie, des rires, des moments inoubliables et de fous acrostiches tout au long de mon baccalauréat et de ma maîtrise.

Un gros merci à tous ceux qui ont écouté mes présentations, lu mes documents et surtout ceux qui ont cru en mes capacités. Merci à mes deux compagnons de vie, Phil et Sunny, d'avoir été présent sans même le savoir et d'avoir ensoleillé mes journées.

J'aimerais finalement remercier mes parents, qui ont toujours su croire en moi et qui m'ont toujours épaulé durant toutes ces années. Votre détermination, authenticité et bienveillance m'ont permis d'être la personne que je suis aujourd'hui et ses valeurs me suivront pour le restant de mon parcours, je vous aime plus que tout.

RÉSUMÉ

Les microorganismes décomposent l'azote organique en formes assimilables pour les plantes. La quantité d'azote libérée dépend de la stœchiométrie de la matière organique et des décomposeurs. Les champignons ont un rapport C: N plus élevé que les bactéries, ils utilisent donc moins d'azote, entraînant une plus grande libération. Notre hypothèse est que l'augmentation du ratio champignons : bactéries (C: B) va augmenter la disponibilité de l'azote organique, ce qui améliorera la qualité des grains de blé. Nous avons calculé le ratio C: B à l'aide de qPCR en temps réel en début de saison et mesuré la qualité des grains dans 33 champs du Québec. Aucune corrélation entre le ratio et la qualité n'a été trouvée, suggérant que des ajouts augmentant la biomasse fongique seraient nécessaires pour modifier les ratios. Trois sols ont été incubés avec différents traitements pour augmenter la biomasse fongique. Les ratios C: B ont été mesurés par qPCR en temps réel. Deux traitements ont augmenté le ratio, soit la drêche et la boue de désencrage. Une expérience au champ a été lancée en combinant ces deux amendements et du compost. Les ratios de la rhizosphère et du sol éloigné ont été calculés aux deux semaines et la qualité des grains a été mesurée. Les deux amendements ont significativement augmenté le ratio C : B dans la rhizosphère et le sol éloigné, mais celui-ci n'a eu aucun effet significatif sur les différents indices de qualités des grains.

Mots clés : Microorganismes ; Écologie microbienne ; Modulation du microbiome ; Agriculture ; Matière organique

ABSTRACT

Microorganisms break down organic nitrogen into forms that can be assimilated by plants. The amount of nitrogen released by microbes depends on the stoichiometry of soil organic matter and microbial biomass. Bacteria have a lower C: N ratio than fungi, so fungi need less nitrogen per amount of biomass, which results in a larger release during fungal degradation. Our hypothesis is that an increased fungi: bacteria ratio will favour nitrogen release, improving wheat grain quality. Firstly, we measured the soil fungi: bacteria ratio through real-time qPCR and grain quality across 33 fields. Correlation analyses did not show any links between the ratio and the quality parameters, suggesting that specific amendments might be necessary to steer ratios. Secondly, a pot experiment was conducted with various amendments designed to increase fungal biomass. Statistical analysis showed that paper mill residues and spent brewery grain increased the F: B ratio the most. Finally, a field experiment was conducted with those amendments, compost, and wheat. The fungi: bacteria ratio of the rhizosphere and bulk soil were determined by real-time qPCR and grain qualities were measured at the end of the season. Amendments were able to increase F: B ratios in the rhizosphere and bulk soil but it did not result in an increase of grain qualities.

Key words: Microorganisms; Microbial ecology; Microbiome engineering; Agriculture; Organic matter

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	III
RÉSUMÉ	V
ABSTRACT	VI
TABLE DES MATIÈRES	VII
LISTE DES FIGURES	X
LISTE DES TABLEAUX	XI
1 MISE EN CONTEXTE	13
2 LE CYCLE DE L'AZOTE	15
2.1 L'AZOTE INORGANIQUE.....	16
2.1.1 <i>La fixation</i>	17
2.1.2 <i>La nitrification</i>	17
2.1.3 <i>La dénitrification</i>	18
2.1.4 <i>Anammox</i>	19
2.1.5 <i>La réduction dissimilatoire et assimilatoire des nitrates en ammonium</i>	19
2.1.6 <i>La chemodénitrification</i>	19
2.2 L'AZOTE ORGANIQUE	20
2.2.1 <i>La dépolymérisation</i>	21
2.2.2 <i>La minéralisation</i>	22
2.2.3 <i>L'immobilisation</i>	22
2.2.4 <i>L'assimilation de l'azote organique par les microorganismes</i>	23
3 LA DÉCOMPOSITION	24
3.1 FACTEURS INFLUENÇANT LA DÉCOMPOSITION.....	26
3.2 LES DÉCOMPOSEURS.....	27
3.2.1 <i>Les champignons</i>	27
3.2.2 <i>Les bactéries</i>	29
3.2.3 <i>Adaptation des microorganismes à leurs ressources et environnement</i>	30
3.2.4 <i>Le ratio champignon : bactérie</i>	31
3.3 LA MATIÈRE ORGANIQUE DÉCOMPOSÉE.....	32
3.3.1 <i>Le ratio carbone : azote de la matière organique</i>	32
4 LA PLANTE	34
4.1 LE MICROBIOME.....	34
4.1.1 <i>Facteurs influençant le microbiome</i>	35
4.1.2 <i>La modulation du microbiome</i>	37

4.2	LE BLÉ	38
4.2.1	<i>Le grain</i>	39
4.2.2	<i>Le gluten</i>	39
4.2.3	<i>Les indices de qualité du grain</i>	40
5	STRUCTURE DU MÉMOIRE	42
5.1	HYPOTHÈSE	42
5.2	OBJECTIFS	42
5.3	APPROCHE MÉTHODOLOGIQUE	42
5.3.1	<i>Étude de corrélation entre le ratio Champignons : Bactéries et la qualité des grains</i>	43
5.3.2	<i>Expérience en pot</i>	43
5.3.3	<i>Expérience au champ expérimental</i>	45
6	MANIPULATION OF THE SOIL FUNGAL: BACTERIAL RATIO TO INCREASE THE WHEAT GRAIN BAKING QUALITY	46
6.1	ABSTRACT	47
6.2	INTRODUCTION	47
6.3	MATERIAL & METHODS	49
6.3.1	<i>Experiment 1: Wheat field survey</i>	49
6.3.2	<i>Experiment 2: soil incubation experiment</i>	49
6.3.3	<i>Experiment 3: Wheat field experiment</i>	50
6.3.4	<i>DNA extraction and Real-Time PCR</i>	50
6.3.5	<i>Grain yield and baking quality</i>	51
6.3.6	<i>Statistical analysis for the pot experiment</i>	51
6.3.7	<i>Statistical analysis for the field experiment</i>	51
6.3.8	<i>Statistical analysis for the survey experiment</i>	51
6.4	RESULTS	52
6.4.1	<i>Wheat field survey: correlation between F: B ratio and grain parameters</i>	52
6.4.2	<i>Soil incubation experiment: Effect of soil type and amendments on the F: B ratio</i>	52
6.4.3	<i>Field experiment: F: B ratios in the bulk soil</i>	56
6.4.4	<i>Field experiment: F: B ratios in the rhizosphere</i>	58
6.4.5	<i>Field experiment: correlation between F: B ratio and grain parameters</i>	60
6.5	DISCUSSION	63
7	DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION	66
7.1	FACTEURS IMPORTANTS LORS DE L'AUGMENTATION DU RATIO C: B.....	67
7.2	LIMITES DES TRAVAUX ET PISTES DE SOLUTIONS	68
7.3	PISTES DE SOLUTIONS AU CHAMP EXPÉRIMENTAL	68
7.4	AUTRES EXPÉRIENCES PERTINENTES	69

7.5	MÉTHODOLOGIE POUR LA MESURE DU RATIO C : B	69
7.6	MÉTHODE D'ANALYSE DES RÉSULTATS.....	70
7.7	PERSPECTIVES.....	71
8	BIBLIOGRAPHIE	72

LISTE DES FIGURES

FIGURE 2.1 : LE CYCLE DE L'AZOTE SIMPLIFIÉ	16
FIGURE 2.2 : SCHÉMATISATION DU SORT DE L'AZOTE ORGANIQUE DANS LE SOL.	20
FIGURE 3.1 : SCHÉMATISATION DE LA DÉCOMPOSITION DE LA MATIÈRE ORGANIQUE DU SOL.....	25
FIGURE 4.1 : SCHÉMA DES DIFFÉRENTS COMPARTIMENTS OÙ SE TROUVE LE MICROBIOME	35
FIGURE 5.1 : MÉTHODOLOGIE DE L'EXPÉRIENCE EN POT	44
FIGURE 5.2 : MÉTHODOLOGIE DE L'EXPÉRIENCE AU CHAMP EXPÉRIMENTAL	45
FIGURE 6.1: F: B RATIOS OF EACH AMENDMENT IN AGRICULTURAL SOIL AT EACH INCUBATION TIME.	53
FIGURE 6.2: F: B RATIOS OF EACH AMENDMENT IN FOREST SOIL AT EACH INCUBATION TIME.....	54
FIGURE 6.3: F: B RATIOS OF EACH AMENDMENT IN POTTING SOIL AT EACH INCUBATION TIME.....	55
FIGURE 6.4: F: B RATIOS OF WHEAT BULK SOIL AMENDED WITH SPENT BREWERY GRAIN OR PAPER MILL RESIDUES, WITH OR WITHOUT COMPOST OVER THE COURSE OF 12 WEEKS.....	57
FIGURE 6.5: F: B RATIOS OF WHEAT RHIZOSPHERE AMENDED WITH SPENT BREWERY GRAIN OR PAPER MILL RESIDUES, WITH OR WITHOUT COMPOST OVER THE COURSE OF 12 WEEKS.	59

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 3.1 : EXEMPLES DES CHAMPIGNONS POSSÉDANT DES ENZYMES EXTRACELLULAIRES ET LEURS SUBSTRATS	29
TABLEAU 3.2 : RATIO C : N DE DIFFÉRENTES MATIÈRES ORGANIQUES	33
TABLE 6.1: SPEARMAN CORRELATIONS FOR THE WHEAT FIELD SURVEY.....	52
TABLE 6.2: ANOVA TABLE FOR THE EFFECT OF AMENDMENTS AND SOIL TYPE FOR THE SOIL INCUBATION EXPERIMENT AT EACH INCUBATION TIME	55
TABLE 6. 3: POST-HOC TUKEY HSD PAIRWISE COMPARISONS FOR SOIL TYPES AND AMENDMENTS FOR THE SOIL INCUBATION EXPERIMENT AT EACH INCUBATION TIME	56
TABLE 6.4: REPEATED-MEASURES ANOVA TABLE FOR THE BULK SOIL OF THE FIELD EXPERIMENT	57
TABLE 6.5: POST-HOC TUKEY HSD PAIRWISE COMPARISONS FOR THE EFFECTS OF AMENDMENTS AT EACH SAMPLING DATE WITH AND WITHOUT COMPOST ADDITION FOR THE BULK SOIL OF THE FIELD EXPERIMENT	58
TABLE 6.6: REPEATED-MEASURES ANOVA TABLE FOR THE RHIZOSPHERE OF THE FIELD EXPERIMENT	59
TABLE 6.7: POST-HOC TUKEY HSD PAIRWISE COMPARISONS FOR THE EFFECTS OF AMENDMENTS AT EACH SAMPLING DATE WITH AND WITHOUT COMPOST ADDITION FOR THE BULK SOIL OF THE FIELD EXPERIMENT	60
TABLE 6.8: ANOVA TABLE FOR THE EFFECT OF AMENDMENTS AND COMPOST FERTILIZATION ON THE MAIN WHEAT GRAIN QUALITY PARAMETERS FOR THE FIELD EXPERIMENT	60
TABLE 6.9 POST-HOC TUKEY HSD PAIRWISE COMPARISONS OF AMENDMENTS AND ORGANIC MATTER FOR THE MAIN GRAIN QUALITY PARAMETERS FOR THE FIELD EXPERIMENT	61
TABLE 6.10: SPEARMAN CORRELATION BETWEEN THE F: B RATIO AND WHEAT GRAIN QUALITY INDICATORS FOR THE BULK SOIL OF THE FIELD EXPERIMENT	62
TABLE 6.11: SPEARMAN CORRELATION BETWEEN THE F: B RATIO AND WHEAT GRAIN QUALITY INDICATORS FOR THE RHIZOSPHERE OF THE FIELD EXPERIMENT	62

1 MISE EN CONTEXTE

La révolution industrielle a débuté par l'invention de la machine à vapeur, en 1784. Plusieurs historiens et anthropologues associent cette invention avec le début d'une époque où l'activité humaine peut désormais influencer les cycles géologiques et biochimiques de la planète Terre ; l'anthropocène (Lewis *et al.*, 2015). Marquée par une augmentation exponentielle de la population, cette époque est aussi associée à une révolution agricole majeure. Au début des années 1900, le processus Haber-Bosch a été créé pour produire en quantité massive des fertilisants azotés afin d'augmenter l'efficacité de production du système agricole (Crutzen, 2006). Cependant, la population n'a cessé d'augmenter depuis, et la demande en nourriture et textile d'origine végétale suit cette tangente. Les humains ont donc trouvé une solution et ils ont modifié à leur guise plus de 75% des habitats terrestres. Environ 40% de ceux-ci ont été convertis en terre agricole (Lewis *et al.*, 2015). Ces changements dévastateurs pour les écosystèmes terrestres n'ont cependant pas permis d'augmenter la production agricole et de subvenir à la demande mondiale. De plus, les solutions utilisées afin d'augmenter la production ont causé plus de mal que de bien à la planète et ses écosystèmes.

Le procédé Haber-Bosch est basé sur la fixation de l'azote gazeux (N_2) provenant de l'atmosphère à l'aide du dihydrogène. Cette transformation libère énormément de gaz à effet de serre, soit environ 1% des émissions globales de gaz à effet de serre (GES) de la planète (Wang *et al.*, 2021). De plus, environ 72% de ce dihydrogène est lui-même produit par modification du méthane à la vapeur (SMR), contribuant ainsi lui aussi à une émission importante de GES (Wang *et al.*, 2021). Le procédé Haber-Bosch est maintenant utilisé depuis plusieurs siècles et environ 50% de l'agriculture mondiale utilise les fertilisants azotés créés par celui-ci (Norskov *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2021). En plus d'être un procédé extrêmement énergivore, l'ajout de fertilisants azotés sur les terres agricoles n'est pas 100% efficace, puisque plus de la moitié de ceux-ci ne sont pas utilisés par les plantes et sont perdus dans l'environnement (Coskun *et al.*, 2017; Ladha *et al.*, 2016). Il en résulte d'énormes conséquences environnementales, principalement dues à la volatilisation du NH_3 , au lessivage et ruissellement du NO_3 ainsi que la dénitrification produisant les gaz N_2 , N_2O et NO (Coskun *et al.*, 2017).

Les conséquences environnementales liées à l'utilisation des fertilisants azotés synthétiques sont diverses. Premièrement, la formation d'oxyde nitreux (N_2O) lors de la production de fertilisants et leurs applications sur les sols agricoles cause directement le réchauffement climatique, puisque l'oxyde nitreux est un gaz à effet de serre 298 fois plus puissant que le dioxyde de carbone en termes de potentiel de réchauffement climatique (GWP) (Erisman *et al.*, 2011). Deuxièmement, la déprotonation de l'ammonium en ammoniac, causée par plusieurs facteurs tel que les propriétés physico-chimiques du sol, résulte en l'acidification des écosystèmes, tel que les océans ainsi que la production de smog. Finalement, le lessivage et ruissellement du nitrate dans les cours d'eau cause plusieurs déséquilibres écosystémiques, causant l'eutrophisation de ceux-ci et une perte énorme de la biodiversité. Il est donc primordial de réduire l'utilisation des fertilisants azotés inorganiques et de trouver une façon plus écologique d'augmenter la productivité des systèmes agricoles. Si l'agriculture ne réduit pas son empreinte écologique, l'ère de l'anthropocène sera rapidement mise à dure épreuve.

2 LE CYCLE DE L'AZOTE

Au fil des années, plusieurs revues de littérature ont vu le jour afin de décrire le cycle de l'azote ainsi que son importance (Bernhard, 2010; Coskun *et al.*, 2017; McNeill, 2007). Le cycle de l'azote est un cycle biochimique essentiel à la vie sur terre. L'azote est un élément indispensable à toute forme de vie, puisque celui-ci est un constituant obligatoire de plusieurs molécules, tel que les acides aminés, les protéines, l'ADN et la chlorophylle. L'azote est aussi un élément limitant la productivité et la croissance des végétaux puisque la forme la plus abondante d'azote n'est pas directement disponible pour les plantes. C'est pourquoi la gestion de l'azote en agriculture de masse a pour principal but d'augmenter la croissance et le rendement des cultures (Robertson *et al.*, 2009). La lithosphère est le plus grand réservoir d'azote, se trouvant sous forme minérale. L'azote minéral ne contribue que très peu au cycle biochimique de l'azote puisque celui-ci est emprisonné (Li *et al.*, 2014). Le plus grand réservoir d'azote disponible pour la biosphère est donc l'atmosphère, où cet élément, sous forme gazeux, constitue environ 79% des molécules totales (Robertson *et al.*, 2009). Cette forme d'azote n'est pas directement accessible pour les organismes, à l'exception de certains microorganismes fixateurs d'azote, nommés diazotrophes. Grâce à ces microorganismes, l'azote atmosphérique devient accessible dans la biosphère puisque ceux-ci fixent le diazote et le transforme en ammoniac, qui est une forme assimilable par les producteurs primaires. La capacité de production primaire d'un écosystème terrestre est donc complémentaire à la capacité des microorganismes à transformer l'azote (Robertson *et al.*, 2015). Le procédé Haber-Bosch est basé sur la fixation de l'azote inorganique afin de produire des fertilisants azotés. Ce procédé a permis de quadrupler la productivité agricole, puisque les plantes n'ont pas besoin de l'aide des diazotrophes pour croître (Stein *et al.*, 2016). Désormais, la fixation industrielle excède grandement la fixation biologique (Fowler *et al.*, 2013; Smil, 2004). Afin de bien comprendre l'importance du cycle de l'azote en agriculture et de comprendre les diverses retombées écologiques des fertilisants utilisés actuellement, il est essentiel d'observer et comprendre les réactions biochimiques et les microorganismes entrant en jeu.

2.1.1 La fixation

La fixation de l'azote est la réaction d'entrée de l'azote dans la biosphère. En effet, cette réaction biochimique permet à l'azote atmosphérique de devenir accessible pour les organismes. La fixation biologique de l'azote atmosphérique décrit la réaction de réduction conduisant la transformation du diazote en ammonium. Elle nécessite énormément d'énergie, soit huit électrons et un minimum de 16 ATP par mol de diazote, puisque les deux atomes d'azotes sont liés par un lien triple fort (Howard *et al.*, 1996). De plus, cette réaction nécessite un catalyseur afin d'avoir assez d'énergie pour être effectuée. La fixation peut donc être biologique, à l'aide d'enzyme catalytique, industrielle, à l'aide de haute température et pression ainsi qu'effectuée par la foudre (McNeill, 2007). La fixation biologique est effectuée par les bactéries et les archées diazotrophes, possédant le complexe enzymatique nitrogénase (Howard *et al.*, 1996; Stein *et al.*, 2016). Les microorganismes fixateurs d'azote peuvent être symbiotiques et non symbiotiques. L'exemple le plus commun de symbiose entre les diazotrophes et les plantes est la relation entre les légumineuses et *Rhizobium spp.* En effet, la plante va sécréter des signaux chimiques sous forme d'exsudats racinaires afin d'attirer la bactérie fixatrice d'azote et de former des nodules, où la fixation du diazote se produit (Rhijn *et al.*, 1995). Actuellement, la fixation industrielle et microbienne s'effectue en plus grande quantité que la dénitrification, causant ainsi un déséquilibre majeur du cycle de l'azote (Fowler *et al.*, 2013).

2.1.2 La nitrification

La nitrification est un processus, effectué en deux étapes par les microorganismes nitrifiants, qui oxyde l'ammoniac en nitrite et nitrate (Erisman *et al.*, 2011; Robertson *et al.*, 2015). La nitrification est l'étape du cycle qui est la moins bien comprise. Pendant plusieurs années, la nitrification était considérée comme seulement effectuée par les bactéries chimiolithotrophes. Désormais, il est connu que les archées ainsi que les microorganismes hétérotrophes peuvent aussi effectuer cette étape du cycle de l'azote (Robertson *et al.*, 2015). Il existe donc deux types de nitrification ; autotrophe et hétérotrophe. La nitrification autotrophe est une réaction en deux étapes avec deux microorganismes aérobiques responsables (Robertson *et al.*, 2015). Il existe aussi des microorganismes capables d'effectuer les deux étapes de la nitrification et ils se nomment les commamox (Robertson *et al.*, 2015). Les microorganismes nitrifiants autotrophes vont utiliser le carbone provenant du dioxyde de carbone pour leurs besoins structurels et par le fait même, oxydent le NH_3 à l'aide de l'oxygène et produit de l'ATP pour leur croissance. La première étape de cette réaction est réalisée par l'enzyme ammoniac mono-oxygénase. Par la

suite, une oxydoréductase va former le nitrite ainsi que des électrons et protons (Robertson *et al.*, 2015).

La nitrification hétérotrophe, quant à elle, n'est pas associée à une croissance cellulaire des microorganismes. Plusieurs microorganismes, spécifiquement les bactéries et les champignons, ont la capacité d'oxyder le NH_4^+ . La nitrification hétérotrophe peut être effectuée selon deux voies métaboliques. La première se retrouve chez les microorganismes possédant des enzymes ammoniac et hydroxylamine oxydantes (Robertson *et al.*, 2015). Ces enzymes ont différents substrats et elles oxydent principalement les composés organiques non polaires. En revanche, ces enzymes peuvent aussi utiliser l'ammoniac comme substrat dans certaines conditions. Le deuxième type de nitrification hétérotrophe fait partie du cycle organique de l'azote et est une réaction biochimique spécifique aux champignons (Robertson *et al.*, 2015). Cette réaction décrit l'oxydation des amines et amides en nitrate passant par plusieurs composés intermédiaires. La nitrification hétérotrophe est rarement le type de nitrification dominant les sols. En effet, elle s'effectue dans les sols et les microenvironnements où la nitrification autotrophe est inhibée, la plupart du temps à cause de la quantité de NH_4^+ et d'oxygène présent dans le sol (Robertson *et al.*, 2015).

2.1.3 La dénitrification

La dénitrification est la réaction fermant le cycle de l'azote. Elle permet à l'azote fixé, se trouvant sous forme de nitrate, de retourner à sa forme gazeuse (N_2 , NO et N_2O) dans l'atmosphère (McNeill, 2007). Cette réaction de réduction est en effet une forme de respiration pour les microorganismes dénitrifiants, c'est-à-dire que la dénitrification crée un flux d'électrons et un gradient de protons, permettant la production d'ATP (Bothe *et al.*, 2006). Les microorganismes dénitrifiants utilisent le NO_3 comme accepteur final d'électron lorsque l' O_2 n'est pas disponible ou limitant. Effectivement, les microorganismes dénitrifiants sont en majorité des anaérobies facultatifs et ils vont synthétiser les enzymes de dénitrification en absence d' O_2 ainsi que selon la disponibilité des substrats de carbone. Chaque étape de la dénitrification est médiée par une enzyme différente parmi les suivantes : nitrate réductase, nitrite réductase, oxyde nitrique réductase et l'oxyde nitreux réductase (McNeill, 2007). Chacune de ces enzymes sont inductibles, c'est-à-dire qu'elles augmentent leurs activités métaboliques seulement en présence de leur substrat ainsi que selon la pression partielle d'oxygène. Il en résulte une cascade enzymatique relativement lente, variant de plusieurs heures *in vitro* à plusieurs jours dans les sols (Li *et al.*, 2014; Robertson *et al.*, 2015).

2.1.4 Anammox

L'anammox, aussi appelé l'oxydation anaérobie de l'ammonium, est la réaction où l'ammonium est converti en diazote avec un accepteur d'électron sous forme de NO_2 (Op den Camp *et al.*, 2007). La réaction d'anammox est un processus mineur du cycle de l'azote. Les bactéries autotrophes effectuent cette réaction en absence d'oxygène. Ces bactéries se retrouvent dans l'ordre des *Brocadiales* et la réaction d'anammox s'effectue dans un organite spécialisé; l'anammoxosome (Op den Camp *et al.*, 2007). Ces bactéries font partie du sol de façon significative lorsque ceux-ci sont submergés d'eau (Robertson *et al.*, 2015).

2.1.5 La réduction dissimilatoire et assimilatoire des nitrates en ammonium

La réduction dissimilatoire des nitrates en ammonium (DNRA) est la transformation microbienne des nitrates et nitrites en ammonium s'effectuant en anaérobie (Robertson *et al.*, 2015). Cette réaction s'effectue en deux étapes distinctes, dont la première étape est la transformation du nitrate en nitrite puis en ammonium et permet la respiration en absence d' O_2 (Silver *et al.*, 2001). Les microorganismes étant capables d'effectuer la réduction dissimilatoire des nitrates sont des bactéries et champignons fermenteurs. La réduction assimilatoire des nitrates en ammonium (ANRA) permet, tout comme la DNRA, de réduire le nitrate (Robertson *et al.*, 2015). Lors de ce processus, le nitrate est réduit en ammonium et finalement assimilé dans le cycle organique de l'azote. Ce processus peut être inhibé par de basses concentrations d'ammonium et d'azote organique. La réaction biochimique de l'ANRA est en effet la même que la DNRA, à l'exception près que l'ANRA est facilité par la participation d'une enzyme nitrite réductase (Stein *et al.*, 2016).

2.1.6 La chemodénitrification

La chemodénitrification est un procédé mineur non biologique, où le dioxyde d'azote est transformé en diazote ou en oxyde nitrique (McNeill, 2007). La chemodénitrification s'effectue lorsque les ions du dioxyde d'azote réagissent avec les particules de sol et il en résulte l'émission de gaz à effet de serre néfastes pour l'environnement. Malgré tout, la quantité totale de diazote, d'oxyde nitrique et de dioxyde d'azote résultant de cette réaction ne contribue que très peu à l'émission totale des terres agricoles (McNeill, 2007).

2.2 L'azote organique

Environ 80 à 90% de l'azote se trouvant dans les sols agricoles est d'origine organique (Farzadfar *et al.*, 2021). L'azote organique se trouve en bonne partie sous forme d'acide aminé (Lipson *et al.*, 2001). Cependant, plusieurs autres formes d'azote organique se retrouvent dans les sols, tels que les protéines, les peptides, les uréides, les nucléosides, les nucléotides et plusieurs autres métabolites secondaires (Farzadfar *et al.*, 2021; Schmidt *et al.*, 2014). Comme il fut mentionné plus haut, le dogme stipulant que l'azote inorganique sous forme de NO_3^- et NH_4^+ sont les principales sources d'azote pour les plantes agricoles a grandement réduit les recherches et questionnements sur le rôle de l'azote organique en agriculture. Il en résulte un manque de connaissance concernant l'utilisation de l'azote organique par les plantes agricoles. Heureusement, les pratiques agricoles commencent à évoluer et penchent de plus en plus vers des approches d'agriculture biologique. Ce changement de pratique encourage les agronomes et scientifiques à se questionner davantage sur l'importance de l'azote organique et du procédé de minéralisation en agriculture et a permis de modifier le modèle actuel d'absorption d'azote par les plantes.

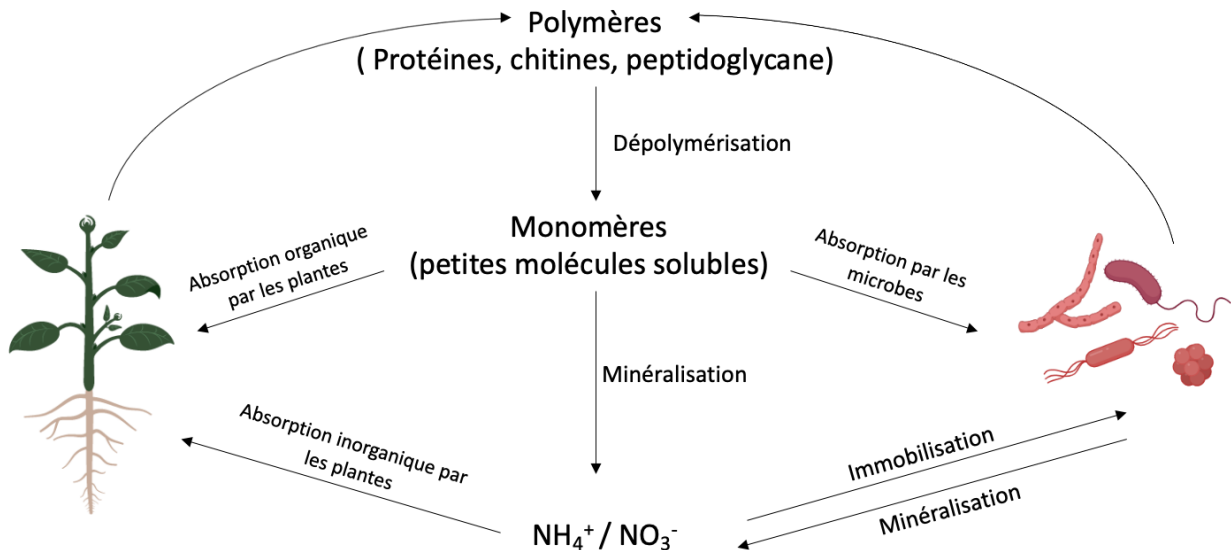


Figure 2.2 : Schématisation du sort de l'azote organique dans le sol.

Les principales réactions biochimiques mettant en scène l'azote organique terrestre ainsi que les principaux acteurs. La dépolymérisation, la minéralisation et l'immobilisation sont effectuées par les microorganismes du sol.

2.2.1 La dépolymérisation

L'azote organique entrant dans le sol se retrouve principalement sous forme de protéine, chitine et peptidoglycane contenu dans la matière organique. Les protéines sont des molécules biologiques composées de chaînes polypeptidiques, qui sont plusieurs acides aminés liés entre eux par des liaisons entre le groupement amide d'un acide aminé et le groupement acide carboxylique d'un autre. La chitine est un composé organique azoté, plus précisément un polysaccharide linéaire, qui est contenu principalement dans la paroi cellulaire des champignons et des invertébrés (Moussian, 2019). Finalement, le peptidoglycane est un polymère se trouvant dans la paroi cellulaire des bactéries. Dans les bactéries Gram positive, il représente de 30 à 70% de la composition totale de la membrane alors que pour les Gram négative, il représente moins de 10% (Schumann, 2011). Ces trois formes d'azote organique sont des molécules généralement non assimilables par les plantes et les microorganismes, et elles doivent être brisées en plus petites composantes, tel que des petits acides aminés et autres petites molécules solubles afin de pouvoir être assimilés (Enggrob *et al.*, 2019; Jones *et al.*, 2005). La dépolymérisation est la réaction de dégradation des gros polymères en plus petites formes d'azote organique. Il s'agit de la réaction permettant l'entrée de l'azote organique dans le cycle de l'azote. La dépolymérisation des protéines s'effectue principalement par les enzymes protéolytiques extracellulaires, majoritairement d'origine microbienne. À la suite de la dépolymérisation, l'azote organique peut facilement être minéralisé sous forme d'ammonium et de nitrate ou être directement absorbé par les plantes et les microorganismes du sol (Nasholm *et al.*, 2009). La dépolymérisation est régulée par plusieurs facteurs biotiques et abiotiques, tel que la taille des molécules à dégrader, l'activité et la structure de la communauté microbienne, la température, la quantité d'azote inorganique présente dans le sol et plusieurs autres (Jan *et al.*, 2009). Les enzymes sécrétées par les microorganismes du sol dépendent du substrat à hydrolyser. Les enzymes principales de dépolymérisation sont donc les protéases, les chitinases et les peptidoglycane hydrolases, mais il en existe plusieurs autres, résultant en une grande diversité d'enzymes protéolytiques. Les microorganismes ont longtemps été perçus comme les seuls acteurs en jeu durant la dépolymérisation. Cependant, il est maintenant connu que certaines plantes sont elles-mêmes capables de dépolymériser les protéines en relâchant des enzymes protéolytiques extracellulaires dans la rhizosphère (Tegeder *et al.*, 2010).

2.2.2 La minéralisation

La minéralisation décrit la cascade enzymatique permettant la conversion de l'azote organique en formes assimilables d'azote inorganique, soit le NH_4 , le NH_3 et le NO_3 (Hagemann *et al.*, 2016; Robertson *et al.*, 2015). La minéralisation peut être divisée en deux étapes distinctes. La première est nommée l'ammonification, qui est la réaction enzymatique permettant de transformer l'azote organique en ammoniac. Cette réaction est effectuée par les microorganismes hétérotrophes du sol (Benbi *et al.*, 2002; Jansson *et al.*, 1982). En effet, tous les microorganismes hétérotrophes utilisent la matière organique pour la production d'énergie et l'assimilation de carbone, ce qui leur permet tous d'effectuer la minéralisation (Erisman *et al.*, 2011). Plusieurs enzymes font partie du processus de minéralisation, dont les désaminases, l'uréase et les acides aminés oxydases. La deuxième étape de la minéralisation est la conversion de l'ammoniac en nitrate et c'est en réalité le même processus que la nitrification mentionnée dans la section 2.1.2.

2.2.3 L'immobilisation

L'immobilisation est le processus contraire à la minéralisation, c'est-à-dire que l'azote inorganique (NH_4 , NH_3 , NO_3) est incorporé par les microorganismes du sol et est converti en azote organique pour leur croissance et métabolisme (Schimel *et al.*, 2004). L'incorporation des différentes sources d'azote inorganique dépend d'enzymes et de systèmes de transport à travers la membrane plasmique des microorganismes. Ces systèmes de transport et enzymes dépendent du substrat à incorporer dans la cellule microbienne. L'ammoniac peut diffuser à travers les membranes des microorganismes, mais ce processus est limité par le gradient de concentration. Afin d'assimiler plus d'ammoniac et d'ammonium, les microorganismes ont des protéines intramembranaires permettant le transport actif du NH_3 et NH_4 dans le cytoplasme (Geisseler *et al.*, 2010; Kleiner, 1981). L'ammonium incorporé dans le cytoplasme est ensuite transformé en azote organique en suivant la voie glutamine ou glutamate synthétase (Geisseler *et al.*, 2010; Helling, 1994). Le nitrate, quant à lui, est absorbé par les microorganismes par un transporteur spécifique (González *et al.*, 2006). Le nitrate ne peut pas être directement incorporé dans une voie métabolique comme l'ammonium. Il doit d'abord être réduit par une réductase assimilatoire (ANR) et une nitrite réductase en ammonium.

2.2.4 L'assimilation de l'azote organique par les microorganismes

En plus de pouvoir être minéralisé, l'azote organique peut aussi être directement assimilé par les plantes et les microorganismes après la dépolymérisation. Les microorganismes possèdent une multitude de transporteurs et d'enzymes permettant l'absorption de plusieurs formes de composés azotés organiques. La régénération de la réserve d'acides aminés dans le sol se fait plus de 1000 fois par jour, ce qui indique que le cycle de production et consommation des acides aminés est beaucoup plus rapide que les autres composés azotés, tel que le nitrate (Moreau *et al.*, 2019). Lorsque les microorganismes utilisent les acides aminés comme source d'azote, les acides aminés sont transportés à travers la membrane plasmique et subissent une transamination ou une désamination afin de pouvoir être utilisés (DeBusk *et al.*, 1984; Geisseler *et al.*, 2010). Les bactéries et les champignons ont plusieurs transporteurs d'acides aminés, cependant les champignons possèdent des transporteurs moins spécifiques que les bactéries, leur permettant d'assimiler un plus vaste éventail d'acides aminés (Geisseler *et al.*, 2010; Wolfenbarger *et al.*, 1980). Il existe aussi d'autres formes d'azote organique utilisables, tel que les sucres aminés provenant des parois cellulaires des champignons et des bactéries qui sont aussi assimilables par des transporteurs membranaires chez les microorganismes (Myrold, 2021).

3 LA DÉCOMPOSITION

La décomposition décrit les procédés mécaniques, chimiques et biologiques permettant de réduire la matière organique morte et les détritiques afin d'éventuellement relâcher du carbone dans l'atmosphère, sous forme de dioxyde de carbone, et de libérer des nutriments assimilables par les plantes et les microorganismes (Robertson *et al.*, 2000). La décomposition est un processus essentiel à tout écosystème, puisqu'elle permet de remettre en circulation les nutriments contenus dans la matière organique et de ne pas accumuler des détritiques, ce qui engendrait une séquestration excessive de nutriments essentiels tels que le carbone, l'azote et le phosphore (Chapin *et al.*, 2002; Robertson *et al.*, 2000). En d'autres mots, ce processus permet le renouvellement des différents éléments et nutriments essentiels à la vie sans l'épuisement des ressources primaires (Boddy, 2016).

La décomposition est divisée en trois processus distincts; le lessivage, la fragmentation et l'altération chimique (Robertson *et al.*, 2000). Le lessivage représente le processus physique où les minéraux et particules solubles sont déplacés dans le sol grâce au mouvement de l'eau. La fragmentation est elle aussi un processus physique et constitue en la détérioration de la matière organique en plus petits morceaux, principalement par les animaux, comme les invertébrés. La fragmentation permet aussi la création de micro-environnements pour les différents microorganismes décomposeurs et la destruction des barrières physiques limitant les altérations chimiques microbiennes (Berg *et al.*, 2005). Il existe aussi la fragmentation causée par le climat et les saisons. Cependant, c'est un effet à plus long terme et moins important que l'action des animaux (Robertson *et al.*, 2000). Finalement, l'altération chimique de la matière organique fait référence à l'activité microbienne, où la matière organique du sol est biochimiquement altérée par des enzymes extracellulaires relâchées principalement par les microorganismes du sol. Il existe plusieurs microorganismes décomposeurs, dont les plus importants sont les champignons et les bactéries, qui représentent à eux seuls 80 à 90% de la respiration et de la biomasse totale des décomposeurs (Robertson *et al.*, 2000). La décomposition est donc un processus effectué par une multitude d'organismes qui possèdent tous des rôles différents et indispensables pour le bien-être des écosystèmes. Il est commun de diviser en trois catégories ces organismes en fonction de leur taille; micro, macro et méso faune (Chapin *et al.*, 2002). La microfaune est constituée des organismes ayant une taille plus petite que 100 µm, tel que les bactéries, les champignons, les nématodes, les protozoaires et autres. La mésofaune contient tous les organismes ayant une taille plus petite que 2 mm, ce qui inclut beaucoup d'organismes provenant

de la classe des insectes. Finalement, la macrofaune regroupe les organismes étant plus grands que 2 mm et beaucoup d'entre eux sont des détritivores et carnivores, permettant une fragmentation physique de la matière organique (Chapin *et al.*, 2002).

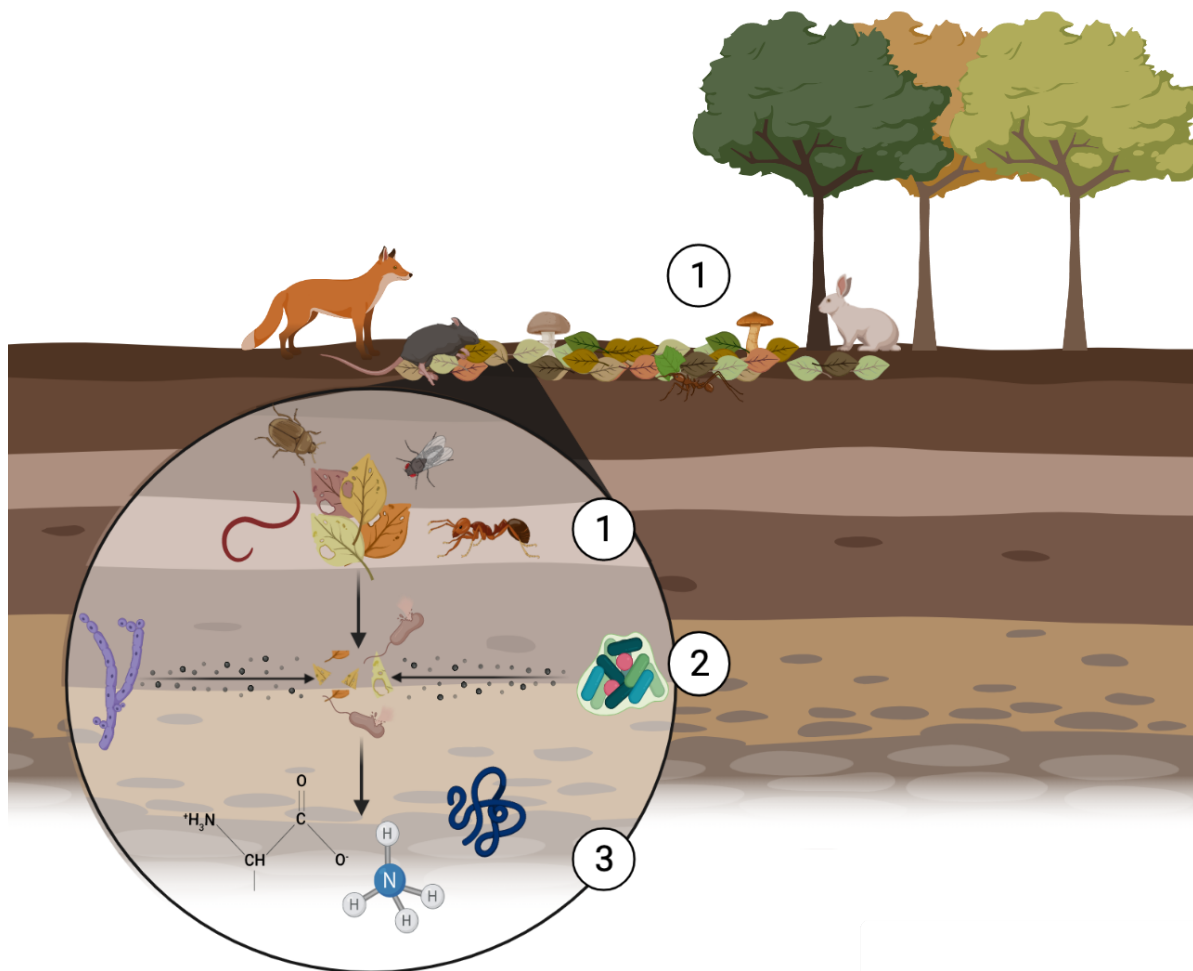


Figure 3.1 : Schématisation de la décomposition de la matière organique du sol.

1- La macro et méso faune fragmentent la matière organique morte, telles que la litière et les animaux morts. 2- Les microorganismes décomposeurs (les champignons représentés en mauve et les bactéries en vert) vont relâcher des enzymes extracellulaires afin de réduire la matière organique fragmentée en petites molécules solubles. 3- Les produits finaux de la décomposition sont des formes assimilables par les microorganismes et les plantes.

3.1 Facteurs influençant la décomposition

Il existe plusieurs facteurs biotiques et abiotiques pouvant influencer la décomposition de la matière organique du sol (Aber *et al.*, 1982; Krishna *et al.*, 2017). La température est l'un des principaux facteurs abiotiques affectant directement et indirectement la décomposition. De façon directe, une augmentation de température augmente la respiration et l'activité microbienne de façon exponentielle (Chapin *et al.*, 2002). Il en résulte donc une rapide minéralisation du carbone, ce qui augmente la vitesse de décomposition de la matière organique présente dans le sol. La température peut aussi affecter indirectement la décomposition, due à son action sur l'humidité du sol. Si le sol est sec et que la température augmente, alors il y a une augmentation de l'évaporation et de la transpiration, ce qui réduit le rythme de décomposition. Les propriétés physico-chimiques du sol exercent aussi une influence sur la décomposition ainsi que sur la communauté microbienne. Par exemple, un changement de pH du sol peut favoriser un certain groupe de décomposeurs (Chapin *et al.*, 2002). En effet, un sol plus acide est principalement dominé par les champignons (Haynes, 1986). Il est donc évident que plusieurs facteurs abiotiques interagissent afin de contrôler le processus de décomposition et qu'il est difficile d'avoir une vision claire de ce phénomène, malgré nos connaissances actuelles. Le principal facteur biotique régulant la décomposition est la matière organique est sa qualité ainsi que sa quantité. La qualité d'un substrat représente la quantité de composantes facilement utilisables. Cette caractéristique est donc déterminée à partir de cinq propriétés chimiques : la taille des molécules, les liens chimiques, la structure des molécules, la toxicité et la quantité de nutriments (Chapin *et al.*, 2002). De plus, l'âge du substrat à décomposer influence la vitesse de décomposition. En quelques mots, la matière organique peut être conservée dans le sol pendant plusieurs années, principalement due aux microorganismes décomposeurs ainsi que les différentes propriétés physiques et chimiques du sol. En plus des structures moléculaires qui peuvent empêcher la dégradation rapide du substrat, l'interaction entre l'argile du sol et la matière organique ainsi que la formation d'agrégats contribue grandement à la rétention de la matière organique dans le sol. La matière organique du sol se lie à l'argile grâce à des liens chimiques, ne permettant pas la décomposition de la matière. De plus, l'interaction entre l'argile et la matière organique cause la séquestration de la matière organique et la formation d'agrégats, empêchant donc l'utilisation de celle-ci par les microorganismes décomposeurs (Quideau *et al.*, 2021).

3.2 Les décomposeurs

Comme mentionné précédemment, les champignons et les bactéries sont les principaux microorganismes décomposant la matière organique du sol. Plus de 90% de la biomasse microbienne du sol est représentée par les bactéries et les champignons (Romaní *et al.*, 2006). Les champignons ont évolué afin d'éventuellement devenir les principaux décomposeurs de la matière organique complexe et ils sont connus pour leur grande diversité d'enzymes extracellulaires (Romaní *et al.*, 2006). Les bactéries sont habituellement les microorganismes décomposant les substrats les plus simples. Cependant, ces deux groupes se trouvent en cohabitation dans le sol et ceux-ci doivent interagir afin d'obtenir les nutriments et les substrats de décomposition (Fabian *et al.*, 2017).

3.2.1 Les champignons

Les champignons sont des microorganismes eucaryotes pluri ou unicellulaires et se retrouvent partout dans l'environnement (Volk, 2013). Les champignons ont été longtemps mal compris et classés dans le règne des plantes, étant considérés comme des plantes primitives. C'est seulement au début des années 70 que l'écologiste Robert Whittaker a séparé complètement les champignons des autres règnes en leur accordant un règne propre à eux, nommé le cinquième règne (Whittaker, 1969). Plusieurs caractéristiques permettent de séparer ce règne des autres dont la principale est que ce sont des microorganismes hétérotrophes, se nourrissant par absorption, pouvant être des saprotrophes, parasites ou symbiotes (Gadd, 2013). De plus, les champignons se reproduisent à l'aide de spores, pouvant être sexuées ou asexuées selon les différentes conditions environnementales et les différentes espèces (Volk, 2013).

Les champignons saprotrophes sont capables de produire des enzymes extracellulaires afin de dégrader la matière organique et d'utiliser les différents produits comme sources d'énergie et de nutriments (Gadd, 2013). Il existe donc une multitude de composés pouvant être dégradés par les champignons, allant de simples composés, comme les sucres, à des composés beaucoup plus complexes, comme la pectine, la lignine et la cellulose (Archer *et al.*, 1995). Plusieurs champignons sont aussi capables de décomposer des matières synthétiquement produites et utilisées par l'humain, tels que les pesticides, les hydrocarbures et même certains types de plastiques (Archer *et al.*, 1995). En plus de leurs facultés exceptionnelles à dégrader un large spectre de matière organique, ces microorganismes possèdent des hyphes, qui sont des filaments composés de cellules tubulaires, leur permettant de croître et d'aller chercher des nutriments dans d'autres micro-environnements du sol, à des distances variant de quelques

centimètres à quelques mètres (Archer *et al.*, 1995). Les champignons ont donc un très grand avantage en comparaison aux bactéries, puisqu'ils sont capables d'importer des nutriments essentiels au bon fonctionnement de leur métabolisme et ils possèdent plusieurs types d'enzymes extracellulaires capables de dégrader un vaste choix de composés. Les principales exoenzymes produites par les champignons lors de la décomposition sont les enzymes dégradant les composantes des plantes et de leurs parois cellulaires, tel que les protéases, pectinases, cellulases et ligninases (Sinsabaugh *et al.*, 2002). Afin de produire ces différentes exoenzymes, les champignons vont dépendre de leur environnement, puisque l'expression génique ainsi que la sécrétion enzymatique sont médiées par différents facteurs environnementaux (Archer *et al.*, 1995). En plus d'être des organismes saprotrophes, les champignons peuvent aussi vivre en relation symbiotique avec plusieurs autres organismes, tels que les algues, les cyanobactéries et les plantes. Les champignons vont permettre à leur symbiote de survivre dans des conditions extrêmes ainsi que de donner accès à plusieurs nutriments (Vandenkoornhuysen *et al.*, 2015). En échange, le symbiote, soit une plante, des cyanobactéries ou des algues, procure aux champignons d'autres nutriments essentiels comme de l'oxygène et différents sucres (Volk, 2013). La symbiose entre les plantes et les champignons forme les mycorhizes, qui peut être définie comme le résultat de l'association des racines de la plante et les champignons. Environ 90% des plantes s'associent pour former des mycorhizes (Bonfante *et al.*, 2009). De plus, il existe deux types de mycorhizes ; les ectomycorhizes et les endomycorhizes. Les champignons faisant les ectomycorhizes vont s'associer seulement à l'extérieur des cellules végétales mais bien à l'intérieur des racines formant le réseau de Hartig (Blasius *et al.*, 1986). En effet, le réseau de Hartig est un réseau d'hyphes intraracinaires. Les ectomycorhizes se forment principalement entre les arbres (et quelques arbustes) et les Basidiomycètes ou Ascomycètes. Les endomycorhizes, aussi appelés les vesicular arbuscular mycorrhizae (VAM), sont des mycorhizes formées par les Gloméromycètes et leurs hyphes vont pénétrer dans le cortex racinaire à la suite d'étapes d'attraction, à l'aide de flavonoïdes et d'étapes de formation et colonisation (Stone *et al.*, 2004). Finalement, il existe aussi les champignons endophytes, qui sont des champignons vivant à l'intérieur des cellules végétales. Plusieurs sont connus pour procurer diverses résistances aux plantes, comme la résistance à certains insectes ravageurs (Stone *et al.*, 2004).

Tableau 3.1 : Exemples des champignons possédant des enzymes extracellulaires et leurs substrats

Enzymes	Substrats	Champignons	Sources
Cellulase	Cellulose	<i>Aspergillus niger</i> <i>Trichoderma reesi</i>	(Archer <i>et al.</i> , 1995)
Chitinase	Chitine	<i>Talaromyces flavus</i> <i>Trichoderma spp.</i>	(Archer <i>et al.</i> , 1995)
Cutinase	Cutine	<i>Fusarium solani</i>	(Soliday <i>et al.</i> , 1984)
Hemicellulase	Hemicellulose	<i>Aspergillus niger</i>	(Archer <i>et al.</i> , 1995)
Ligninase peroxidase		<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	(Ritch Jr <i>et al.</i> , 1991)
Manganese peroxidase	Lignine	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	(Ritch Jr <i>et al.</i> , 1991)
Pectine lyase		<i>Aspergillus niger</i>	(Kusters-van Someren <i>et al.</i> , 1992) (Gysler <i>et al.</i> , 1990)
Pectate lyase	Pectine	<i>Aspergillus nidulans</i> <i>Fusarium solani</i>	(Dean <i>et al.</i> , 1989) (Gonzalez-Candelas <i>et al.</i> , 1992)
Ribonucléase	ARN	<i>Rhizopus niveus</i>	(Horiuchi <i>et al.</i> , 1988)
Metalloprotéase	Protéine	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus oryzae</i>	(Zhu <i>et al.</i> , 1990)

3.2.2 Les bactéries

Les bactéries se retrouvant dans le sol peuvent être divisées en quatre groupes fonctionnels ; les décomposeurs, les mutualistes, les pathogènes et les lithotrophes et chemoautotrophes (Hoorman, 2011) . Le principal avantage des décomposeurs bactériens est leur petite taille. Cela permet d'obtenir une plus grande surface de contact avec l'extérieur, d'absorber plus de substrats solubles et donc de se répliquer plus rapidement que les champignons (Berg *et al.*, 2005). Cependant, le désavantage de leur petite taille est que les bactéries sont extrêmement dépendantes des substrats se trouvant dans leur micro-environnement. Elles ne peuvent pas aller « chercher » les différents substrats à dégrader, comme les champignons le font avec leurs réseaux d'hyphes (Archer *et al.*, 1995). La majorité des bactéries se trouvant dans le sol vont se déplacer par le mouvement de l'eau ou s'accrocher directement au substrat à dégrader (Goodfellow *et al.*, 1983). Les bactéries peuvent dégrader plusieurs types de substrats simples, comme des sucres, mais aussi des substrats plus complexes, comme des cellules fongiques, bactériennes et végétales mortes. Par exemple, les *Actinomycètes*, qui sont des bactéries Gram positive formant des colonies sous forme d'hyphes appelés pseudohyphes. Elles sont capables

de produire des enzymes dégradant la lignine et même plusieurs fongicides, leur permettant de compétitionner avec les champignons (Goodfellow *et al.*, 1983). Les bactéries se trouvant attachées à leur substrat forment habituellement des biofilms qui vont agir comme consortium microbien afin de dégrader la matière organique (Donlan, 2002). Un biofilm est une communauté microbienne fixée sur un support, dans ce cas-ci un support de matière organique, et maintenue par une matrice extracellulaire adhésive. Cette matrice extracellulaire est en réalité une matrice d'exopolysaccharides composées de polysides et d'ADN (Mooshammer *et al.*, 2014). La matrice d'exopolysaccharides permet au consortium microbien d'augmenter l'efficacité des exoenzymes utilisées lors de la dégradation des substrats organiques, puisque ces enzymes sont contenues dans le biofilm et ne dérivent pas avec le mouvement de l'eau dans le sol. De plus, les biofilms vont agir comme protection contre les divers prédateurs et vont aussi permettre de réduire le stress hydrique, puisque les biofilms ont une bonne capacité de rétention d'eau (Hoorman, 2011). Toutes ces raisons expliquent pourquoi les biofilms jouent un grand rôle dans la décomposition bactérienne et aussi pourquoi plusieurs consortia microbiens sont utilisés par l'homme afin de dégrader des composés aromatiques et autres contaminants, tels que les hydrocarbures.

3.2.3 Adaptation des microorganismes à leurs ressources et environnement

Il est rare que la stœchiométrie de la matière organique présente dans les sols soit égale aux besoins élémentaires des microorganismes décomposeurs. Ils doivent donc s'adapter aux différents substrats présents dans le sol. C'est pourquoi les microorganismes se sont munis de différents mécanismes afin de s'adapter aux différents substrats, dont les quatre principaux sont ; premièrement d'ajuster leurs demandes élémentaires (C: N: P). Deuxièmement, de produire des enzymes extracellulaires qui dégradent certains composés spécifiques et d'ajuster leurs productions. Troisièmement, de minéraliser les éléments en excès et de les relâcher dans l'environnement et finalement d'aller chercher les éléments dans des sources externes, comme l'atmosphère (Mooshammer *et al.*, 2014). L'ajustement de la demande élémentaire des microorganismes peut se diviser en deux processus distincts. En premier lieu, les microorganismes peuvent individuellement ajuster leur demande physiologique en emmagasinant les éléments en excès. En deuxième lieu, la communauté microbienne peut elle aussi s'adapter aux différentes ressources et favoriser un certain groupe de microorganismes décomposeurs, soit les bactéries ou bien les champignons (Six *et al.*, 2006).

3.2.4 Le ratio champignon : bactérie

Malgré leur rôle commun lors de la décomposition de la matière organique, les champignons et les bactéries ont des exigences nutritionnelles et des efficacités de croissance différentes, ce qui leur permet de se développer dans des conditions quasi antagonistes (Malik *et al.*, 2016). Par exemple, les champignons sont connus pour utiliser la matière organique plus efficacement et ont une demande en azote inférieure à celle des bactéries. En effet, les bactéries ont un ratio Carbone : Azote (ratio C: N) variant entre 3:1 et 6:1 et les champignons ont un ratio variant de 5 :1 à 15 :1 (Strickland *et al.*, 2010). Les bactéries ont donc besoin d'un atome d'azote pour chaque trois à six atomes de carbone incorporés, ce qui veut dire qu'elles ont besoin de plus d'azote que les champignons pour leurs croissances et leurs besoins métaboliques. Les champignons sont également moins résistants aux récoltes, à l'utilisation excessive d'engrais azotés inorganiques et aux labours (Camberato *et al.*, 2006). Ainsi, la décomposition fongique s'effectue principalement lorsque la teneur en azote de la matière à décomposer est faible et il en résulte potentiellement une plus grande libération d'azote organique. D'un autre côté, les bactéries vont bénéficier d'un mode de vie qualifié d'opportuniste, puisqu'elles vont croître rapidement en utilisant les substrats simples et solubles. C'est pourquoi elles se retrouvent la plupart du temps dominantes dans les micro-environnements riches en substrats solubles, tel que dans la rhizosphère ainsi que sur les carcasses animales (Berg *et al.*, 2005) . Il est évident qu'il est primordial de nuancer ces propos, et que plusieurs bactéries et champignons ne suivent pas tous la norme énoncée ci-dessus. En effet, il existe un vaste éventail de mode et stratégie de croissance au sein des bactéries et des champignons. En revanche, la division de la décomposition en deux catégories, soit la décomposition fongique et la décomposition bactérienne, permet de simplifier la compréhension de l'activité microbienne et surtout de comprendre la dynamique de la décomposition dans les divers écosystèmes. Cela explique pourquoi, ces deux catégories de décomposeurs ont été utilisées comme indicateur, sous forme d'un ratio ; le ratio Champignon : Bactérie (C: B) (Malik *et al.*, 2016). Le ratio C: B est le rapport entre la quantité de champignons et la quantité de bactéries dans un écosystème défini (de Vries *et al.*, 2006). Il existe plusieurs techniques et méthodes afin de calculer le ratio Champignon : Bactérie. Parmi ceux-ci la méthode de quantification des acides gras phospholipidiques (PLFA) et des ergostérols est l'une des plus connues. Cette méthode consiste à quantifier les PLFA typiques des membranes bactériennes ainsi que l'ergostérols, qui est un stérol composant la membrane des mycètes (Frostegard, 1996). Il existe aussi des méthodes génomiques plus récentes, comme la PCR quantitative. La PCR quantitative permet de mesurer la quantité d'un gène, ou d'un segment de gène, à l'aide de la fluorescence (Fierer *et al.*, 2005; Raeymaekers,

2000). Les différentes méthodes possèdent toutes des avantages et inconvénients. Il faut donc réfléchir avant de choisir la méthode à utiliser et surtout, savoir quelles variables réponses seront observées à l'aide du ratio champignon : bactérie, c'est-à-dire le ou les phénomènes à expliquer à l'aide du ratio (Strickland *et al.*, 2010).

3.3 La matière organique décomposée

La matière organique du sol n'est pas seulement un vecteur pour le retour des nutriments dans la biosphère. Celle-ci affecte aussi plusieurs types de propriétés du sol, tel que les propriétés physiques, chimiques et biologiques (Larney *et al.*, 2012; Pascual *et al.*, 1999; Stewart *et al.*, 2000). La matière organique du sol joue un rôle important notamment sur la nutrition des plantes et des microorganismes, la disponibilité des micronutriments, la capacité de rétention d'eau du sol ainsi que sa capacité tampon (Franklin Elmer, 1973; Loveland *et al.*, 2003). Depuis longtemps, l'agriculture intensive ainsi que les différentes pratiques agricoles dégradent et appauvrissent très rapidement les sols (Larney *et al.*, 2012). La conversion des différents écosystèmes en terre agricole cause l'érosion des sols ainsi que la perte de la matière organique. De plus, l'utilisation intensive de ces terres agricoles amplifie l'érosion et diminue la durabilité des sols et le rendement des cultures agricoles (Tiziano *et al.*, 2011). En plus de diminuer l'application de fertilisants azotés chimiques qui sont polluants, l'ajout de matière organique dans les champs agricoles améliore les propriétés du sol. Cela pourrait aussi être bénéfique pour les sols ayant perdu leurs propriétés physico-chimiques dues à l'érosion, la fertilisation et les pratiques agricoles intensives (Larney *et al.*, 2012). La matière organique peut être ajoutée aux sols sous différentes formes, telles que le compost, le fumier, mais aussi des résidus de plusieurs industries, comme l'industrie papetière, l'industrie forestière et même l'industrie brassicole. L'utilisation de sous-produit provenant de diverses industries pourrait permettre la mise en place d'une économie dite circulaire, c'est-à-dire d'éliminer le gaspillage de plusieurs ressources ainsi que de diminuer l'impact environnemental. Cependant, les différentes formes de matière organique et leurs taux d'application sur les sols influencent grandement le résultat. En effet, la composition de la matière organique va dicter les différents processus de décomposition ainsi que la quantité de macro- et micronutriments libérés.

3.3.1 Le ratio carbone : azote de la matière organique

Comme mentionné ci-dessus, la qualité d'un substrat influence grandement le processus de décomposition. Les cinq propriétés chimiques, c'est-à-dire la taille et la structure des molécules, les liens chimiques, la toxicité et la quantité de nutriment, déterminant la qualité d'un substrat

agissent en synergie afin d'influencer la décomposition microbienne. Il est donc difficile de déterminer une ou plusieurs propriétés permettant de prédire la vitesse et le processus de décomposition. Cependant, le ratio carbone : azote est fréquemment utilisé comme indice de décomposition des différentes matières organiques (Ostrowska *et al.*, 2015). Ce ratio représente en réalité la cinquième propriété chimique énumérée précédemment, c'est-à-dire la quantité de nutriment présent dans la matière. En effet, le ratio carbone : azote est la proportion de carbone et d'azote dans le sol ou dans une matière quelconque. Une matière organique ayant un ratio C: N bas, contient donc une plus grande quantité d'azote et une matière ayant un ratio C: N haut contient proportionnellement plus de carbone. En effet, un substrat ayant un ratio C: N bas est considéré comme de bonne qualité et va favoriser une croissance bactérienne, tandis qu'un substrat de basse qualité possède un ratio C: N élevé et va favoriser une croissance fongique (Bossuyt *et al.*, 2001).

Tableau 3.2 : Ratio C : N de différentes matières organiques

Matière organique	Ratio C : N	Sources
Compost	11	(Larney <i>et al.</i> , 2003)
Fumier porcin	15	(Zanuzzi <i>et al.</i> , 2009)
Résidu d'alfalfa	16	(Robertson <i>et al.</i> , 2015)
Paille	53	(Larney <i>et al.</i> , 2003)
Boue de désencrage	112	(Fierro <i>et al.</i> , 1999)
Litière de pin	300	(Robertson <i>et al.</i> , 2015)
Brin de scie	664	(Huang <i>et al.</i> , 2004)

4 LA PLANTE

4.1 Le microbiome

La définition précise du microbiome est encore un sujet controversé et elle varie selon les différents axes de recherche. La définition la plus citée dans la littérature est la citation écologique de Lederberg : le microbiome est la communauté composée des microorganismes symbiotiques, commensaux et pathogéniques dans une aire biotique ou un environnement donné (Berg *et al.*, 2020; Lederberg *et al.*, 2001). Le microbiome des plantes est très important pour la survie et la santé des plantes (Turner *et al.*, 2013). En effet, le microbiome est connu pour conférer des résistances accrues à divers stress abiotiques et biotiques. Par exemple, les microorganismes du sol sont des joueurs importants dans la prévention des divers pathogènes en produisant divers antibiotiques ou en induisant le système immunitaire des plantes par la production d'acides salicyliques qui vont lier les récepteurs de la plante et activer une réponse immunitaire (Arif *et al.*, 2020). De plus, plusieurs microorganismes permettent à leur plante hôte d'obtenir plusieurs éléments limitant leur croissance tel que l'azote et le phosphore et par le fait même, promouvoir la croissance des plantes (Arif *et al.*, 2020). Donc, le microbiome des plantes est un outil hors pair et peut potentiellement être utilisé afin d'augmenter la production et le rendement agricole, de réduire l'ajout de fertilisants et autres composés chimiques et ultimement, de réduire drastiquement la production de gaz à effet de serre (Arif *et al.*, 2020). L'utilisation du microbiome pourrait potentiellement permettre de trouver des alternatives et solutions à plusieurs problèmes majeurs auxquels fait face l'agriculture d'aujourd'hui. Le microbiome de la plante peut être divisé en plusieurs parties distinctes selon l'emplacement de la communauté microbienne. Les microorganismes se retrouvent sur toutes les surfaces des plantes (Turner *et al.*, 2013). Les compartiments se trouvant sous la terre se nomment la rhizosphère, le rhizoplan ainsi que l'endosphère (Kavamura *et al.*, 2021). La rhizosphère est la zone de sol entourant la racine et cette zone est extrêmement influencée par les exsudats racinaires et la rhizodéposition (Mahapatra *et al.*, 2020). Le microbiome rhizosphérique confère plusieurs caractéristiques bénéfiques à la plante, telles que la prévention contre les pathogènes, la modulation du système immunitaire de la plante ainsi que l'augmentation de l'absorption de plusieurs nutriments essentiels comme l'azote et le phosphore (Berendsen *et al.*, 2012). La rhizosphère est l'un des écosystèmes les plus complexes et elle renferme une grande diversité et quantité de microorganismes (Mahapatra *et al.*, 2020). Le rhizoplan désigne l'interface entre la racine et la rhizosphère. Finalement, les microorganismes peuvent aussi vivre à l'intérieur des racines et

dans tous les autres tissus végétaux. La zone décrivant l'intérieur des tissus est l'endosphère. Les compartiments se trouvant à l'extérieur du sol peuvent varier selon les plantes hôtes (Berendsen *et al.*, 2012). Pour le blé, les compartiments sont la phyllosphère, la caulosphère et la spicosphère (Kavamura *et al.*, 2021). La phyllosphère désigne la zone des feuilles et la caulosphère désigne la zone de la tige. La spicosphère est un terme spécifique au blé et représente la zone de l'épi, qui est la niche de plusieurs microorganismes pathogènes tels que plusieurs champignons (Kavamura *et al.*, 2021).

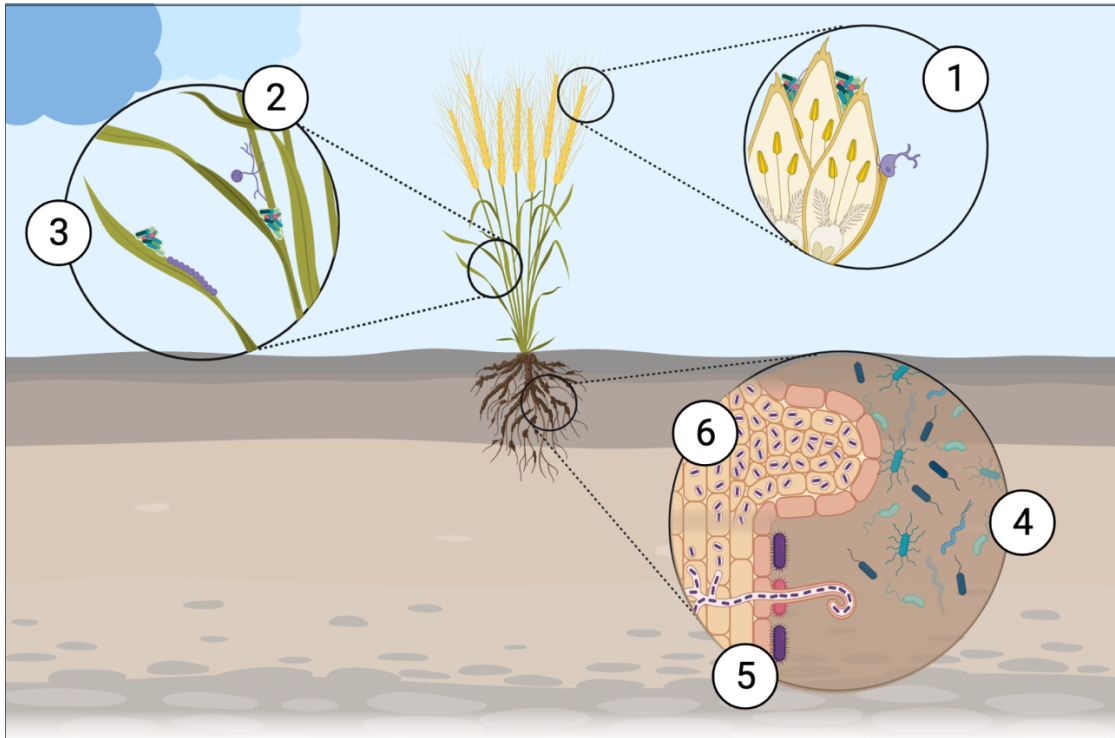


Figure 4.1 : Schéma des différents compartiments où se trouve le microbiome

1 - La spicosphère est un compartiment spécifique au blé et il représente la partie de l'épi et les grains. 2 - La caulosphère désigne la tige. 3 - La phyllosphère désigne le compartiment sur les feuilles. 4 - La rhizosphère est le compartiment entourant les racines. 5 - Le rhizoplane désigne l'interface entre la racine et la rhizosphère. 6 - L'endosphère est le compartiment à l'intérieur des cellules de la plante hôte. Il existe plusieurs pathogènes occupant cette niche, mais aussi plusieurs microorganismes symbiotiques tels que les champignons mychoriziens.

4.1.1 Facteurs influençant le microbiome

Le microbiome est influencé par une multitude de facteurs biotiques et abiotiques, qui peuvent changer complètement la diversité ainsi que le processus de formation du microbiome de la plante (Kavamura *et al.*, 2021). Il est aussi important de comprendre que les différentes techniques d'identification et de détermination du microbiome n'offrent souvent pas les mêmes résultats, ce qui confère plusieurs incertitudes dans sa composition exacte (Kavamura *et al.*,

2021). Par exemple, deux études semblables étudiant les communautés microbiennes du blé ont seulement trouvé quatre genres bactériens, quatre taxons fongiques et deux protistes communs (Kavamura *et al.*, 2021; Rossmann *et al.*, 2020; Simonin *et al.*, 2020). Le reste des microorganismes trouvés dans les deux études individuelles n'était pas commun, ce qui prouve que la détermination du microbiome est difficile et que celui-ci varie énormément selon plusieurs facteurs et qu'il existe aussi plusieurs biais techniques (Kavamura *et al.*, 2021). Il est néanmoins possible de séparer les facteurs influençant le microbiome en deux catégories : les facteurs anthropiques et les facteurs environnementaux.

Les facteurs anthropiques sont des facteurs d'origine humaine (Kavamura *et al.*, 2021). En agriculture de masse, il existe plusieurs pratiques pouvant modifier le microbiome. Par exemple, l'ajout de plusieurs composés chimiques, comme les fongicides, les insecticides, les fertilisants et même des résidus de plastique modifient la diversité microbienne (Ansari *et al.*, 2014). L'ajout de fertilisant inorganique change non seulement la communauté microbienne de la rhizosphère et du sol, mais aussi les communautés se trouvant dans les parties aériennes du blé, telles que la spicosphère et la phyllosphère (Amadou *et al.*, 2020). De plus, la modification du sol et des plantes se trouvant dans un champ, tel que les rotations de culture et le labour, modifient aussi grandement la communauté microbienne. Par exemple, le labour réduit la communauté et la diversité fongique, due à la destruction des réseaux d'hyphes (Thiele-Bruhn *et al.*, 2012). Cela change donc la structure complète de la communauté. De plus, les monocultures, c'est-à-dire la culture de la même plante durant plusieurs années, changent les propriétés physico-chimiques du sol, ce qui affecte grandement les dynamiques microbiennes (Kavamura *et al.*, 2021).

Les facteurs environnementaux peuvent être à leur tour divisés en deux catégories, les facteurs biotiques et les facteurs abiotiques. Un bon exemple de facteur abiotique est le stress hydrique. En effet, lorsque le microbiome du blé se retrouve en condition de stress hydrique, les interactions plantes-microbes et les interactions microbes-microbes varient énormément (Azarbad *et al.*, 2020). Il a même été démontré que le microbiome pouvait augmenter la tolérance au stress hydrique de la plante à l'aide de plusieurs mécanismes (Agoussar *et al.*, 2021a). Les facteurs abiotiques sont donc des facteurs non vivants, tels que la température, les propriétés physico-chimiques du sol et plusieurs autres (Latz *et al.*, 2021). Les facteurs biotiques sont les facteurs originaires du vivant, comme la présence d'un pathogène peut modifier le microbiome ou bien la sélection des microorganismes par la plante hôte (Kavamura *et al.*, 2021). Bref, une multitude de facteurs agissent directement et indirectement sur le microbiome des plantes et il est primordial

de comprendre la complexité des interactions plantes-microbes afin d'avoir une vue d'ensemble sur l'holobionte qu'est la plante et son microbiome (Selosse, 2016).

4.1.2 La modulation du microbiome

Comme mentionné précédemment, le microbiome des plantes est potentiellement un outil important afin de lutter contre plusieurs problèmes actuels du système agricole. En effet, actuellement l'industrie agricole priorise l'utilisation de fertilisants chimiques inorganiques, qui sont produits à partir de ressources épuisables. De plus, ces fertilisants sont néfastes pour l'environnement. L'utilisation du microbiome, ou bien de certains membres du microbiome des plantes, pourrait être une alternative aux fertilisants chimiques afin d'influencer le rendement et la production agricole (Schlaeppli *et al.*, 2015). La modulation du microbiome des plantes fait beaucoup référence à la communauté microbienne de la rhizosphère, puisque la communauté rhizosphérique renferme plusieurs microorganismes bénéfiques pour la croissance et la survie de la plante lors de stress biotiques et abiotiques (Arif *et al.*, 2020). De plus, le développement racinaire et la santé de la plante sont énormément modulés par les microorganismes de la rhizosphère, puisque ceux-ci influencent le système immunitaire de la plante et interagissent avec les pathogènes présents dans le sol (Arif *et al.*, 2020). Il existe plusieurs façons de moduler le microbiome, dont certaines peuvent être décrites comme étant plutôt traditionnelles alors que d'autres pratiques émergent et sont toujours actuellement à l'étude. Par exemple, une méthode traditionnelle de la modulation du microbiome est l'ajout de matière organique afin d'optimiser les interactions plantes-microbes. L'ajout de matière organique permet de rendre plusieurs nutriments disponibles pour les microorganismes du sol et de la rhizosphère qui sont bénéfiques pour la plante et permet aussi de réduire l'impact environnemental de l'agriculture et ses déchets (Sankar Ganesh *et al.*, 2017). Il est aussi possible de moduler les communautés microbiennes en se basant sur les différents processus écologiques tel que la sélection, la spéciation, la dispersion et la dérive (Agoussar *et al.*, 2021b). Par exemple, la sélection s'effectue normalement lors de divers stress abiotiques comme la sécheresse ou lorsque la plante forge son microbiome à l'aide de diverses molécules de signalisation. En effet, plusieurs pistes potentiellement intéressantes liées aux exsudats racinaires et aux molécules présentes dans la rhizosphère pourrait aider la croissance des plantes. L'utilisation d'exsudat racinaire pourrait permettre d'influencer significativement le microbiome de la rhizosphère, favorisant certains microorganismes bénéfiques (Arif *et al.*, 2020). Par exemple, les benzoxazinoïdes, qui sont des exsudats racinaires provenant du maïs et possédant un rôle dans la formation du microbiome de la rhizosphère, ont été utilisés afin de moduler et protéger la plante contre l'attaque des insectes

(Cotton *et al.*, 2019). La dispersion est l'approche la plus utilisée puisque depuis déjà plusieurs années, les pratiques agricoles changent et se concentrent sur l'ajout de microorganismes bénéfiques directement sur les graines ou dans le sol. Par exemple, actuellement beaucoup d'intérêt est porté sur les bactéries promotrices de la croissance de la plante (PGPB) (Singh *et al.*, 2019). Ces bactéries sont des microorganismes colonisant les racines des plantes et la rhizosphère et influence la croissance ainsi que la résistance aux stress des plantes (Rivera *et al.*, 2015). Il existe deux principaux types de PGPB, ceux qui sont intracellulaires, c'est-à-dire les endophytes et les PGPB extracellulaires, se retrouvant dans la rhizosphère et le rhizoplan (Martínez-Viveros *et al.*, 2010). Par exemple, plusieurs bactéries, tel que *Pseudomonas spp.* et *Paraburkholderia spp.* ont été identifiées comme bactéries augmentant la croissance du blé, en augmentant la fixation de l'azote, la solubilisation du phosphate et en modulant les différents mécanismes de la plante reliés au stress (Rascovan *et al.*, 2016). Finalement, la spéciation dans le contexte de la modulation du microbiome fait seulement référence aux nouvelles caractéristiques qui peuvent être acquises dans une communauté déjà établit dans un environnement donné (Agoussar *et al.*, 2021b). Par exemple, il serait possible d'incorporer des gènes spécifiques permettant de résister à un pathogène quelconque dans la communauté microbienne rhizosphérique, ce qui permettrait de conférer une résistance à la plante hôte (Agoussar *et al.*, 2021b).

4.2 Le blé

Le blé (*Triticum spp.*) appartient à la famille des Graminées et compte six espèces distinctes (Shewry, 2009). Parmi celles-ci, l'espèce la plus cultivée est *Triticum aestivum*, nommée le blé commun. Le blé fait partie, avec le maïs et le riz, du « Big three », c'est-à-dire qu'il fait partie des céréales les plus produites au monde (Coskun *et al.*, 2017; Shewry, 2009). En effet, le blé est la deuxième plus grande culture au monde, avec environ 200 millions ha destinés à sa croissance et production (Zörb *et al.*, 2018). C'est l'une des céréales cultivées contenant le plus de protéines et de carbohydrates, en plus de contenir une bonne quantité de minéraux, de vitamines et de composés phytochimiques (Šramková *et al.*, 2009). Le blé commun est hexaploïde, possédant 42 chromosomes et est probablement originaire du Moyen-Orient (Shewry, 2009). Le blé polyploïde provient de l'hybridation entre *Triticum* et *Aegilops* (Dvořák, 2001). Le blé peut être classé en différentes catégories, selon la fermeté du grain, mais aussi selon le moment de la semence. Le blé dur et le blé tendre réfèrent à la fermeté du grain. Le blé dur est souvent utilisé pour la production de pâte alimentaire puisqu'il est composé de beaucoup de gluten, ce qui confère une grande dureté (Ferreira *et al.*, 2012). Le blé tendre, lui, est utilisé pour la fabrication

de farine. De plus, on distingue le blé de printemps ayant été semé au printemps et le blé d'hiver ou d'automne ayant été semé en automne.

4.2.1 Le grain

Le grain de blé se situe dans un épi et il est composé de 4 parties : le germe, qui est la future plante, l'albumen, l'enveloppe et la brosse (Šramková *et al.*, 2009). L'enveloppe est ce qui protège le grain et elle est riche en vitamine B et minéraux (Šramková *et al.*, 2009). Elle est principalement constituée de fibres contenant de la cellulose, du pentosane de xylose et d'arabinose (Šramková *et al.*, 2009). L'albumen, aussi appelé l'endosperme, est constitué principalement de protéines et d'amidons. Les protéines présentes dans l'albumen peuvent être divisées en deux catégories distinctes : les protéines structurales et les protéines de réserve (Šramková *et al.*, 2009). Les protéines structurales sont principalement excrétées lorsque le grain est au début de sa maturation, c'est-à-dire lorsque les cellules de l'endosperme sont encore en croissance. Les protéines structurales sont l'albumine, la globuline et certaines protéines amphiphiles (Triboï *et al.*, 2003). Les protéines de réserve vont s'accumuler lorsque les cellules de l'endosperme vont finir de croître et vont être au stade de remplissage du grain (Triboï *et al.*, 2003). Deux protéines sont principalement sécrétées, soit le monomère de gliadine et le polymère de glutenine (Branlard *et al.*, 2001). Ces deux protéines de réserve vont former le gluten, qui confère plusieurs propriétés essentielles au grain (Branlard *et al.*, 2001).

4.2.2 Le gluten

Le gluten est la principale protéine accumulée dans le blé. Cette protéine est un agencement de plusieurs protéines complexes, principalement de gliadine et glutenine (Branlard *et al.*, 2001). Le gluten peut être classé en plusieurs catégories selon son poids moléculaire ainsi que selon sa structure protéique. La structure et la quantité de gluten produit dans les grains varient selon la variété de blé, mais aussi selon les différentes conditions de croissance (Shewry, 2019). Par exemple, la quantité de ω -5 gliadine présente dans le gluten augmente selon le type de fertilisation et la température lors de la croissance de la plante (Kucek *et al.*, 2015). Donc plus il y a de gliadine, il se produit alors un changement de structure moléculaire dans le grain et cela modifie les différentes propriétés du grain. L'une des principales propriétés recherchées lors de la production de farine et de pain est la viscoélasticité du gluten contenu dans la farine (Branlard *et al.*, 2001; Triboï *et al.*, 2003). La viscoélasticité est conférée grâce à la gliadine et la glutenine. En effet, l'élasticité de la pâte est conférée par les polymères de glutenine et la viscosité par les

monomères de gliadine (Veraverbeke *et al.*, 2002). Malgré les différentes qualités de gluten, attribuable aux conditions de croissance, mais aussi aux différentes variétés de blé, la quantité de gluten dans le grain est la propriété qui modifie le plus la viscosité et l'élasticité de la pâte (Veraverbeke *et al.*, 2002).

4.2.3 Les indices de qualité du grain

La qualité du grain de blé dépend de plusieurs propriétés physico-chimiques et un « bon » grain dépend toujours de l'usage final de celui-ci. En effet, un grain utilisé pour faire de la farine pour la production de pâtes alimentaires n'aura pas les mêmes propriétés physico-chimiques qu'un grain utilisé pour faire de la farine à pain. Cependant, il existe plusieurs propriétés très importantes qui sont primordiales pour tous les types de grain et d'usage. Premièrement, la largeur du grain et la quantité de farine qui peut être extraite de celui-ci ont un impact très important sur le rendement final de la production (Nuttall *et al.*, 2017). De plus, comme mentionnée précédemment, l'une des principales caractéristiques recherchées lors de la production de farine de blé est la propriété viscoélastique de la pâte formée lorsqu'on ajoute de l'eau à la farine (Veraverbeke *et al.*, 2002). Afin de déterminer si la pâte possède une bonne viscoélasticité, plusieurs tests peuvent être effectués. Premièrement, la quantité de gluten dans les grains peut être déterminée. En revanche, la quantité de gluten n'est pas toujours synonyme de qualité, c'est donc pourquoi il existe deux autres mesures qui peuvent être effectuées par le test GlutoPeak, nommé le BEM (Brabender Energy Max) et le PMT (Peek Max Time)(Popper *et al.*, 2006). Le BEM fait référence à la consistance maximale de la pâte, qui est souvent exprimée en unité brabender (Ub) (Freund *et al.*, 2006). Le PMT est la durée, en seconde, que prend la pâte avant d'atteindre sa consistance maximale. Donc les propriétés recherchées afin d'avoir une farine de qualité sont d'obtenir un court PMT et un BEM élevé, ce qui veut dire une grande consistance maximale, qui est atteinte en un minimum de temps possible. D'autres indicateurs sont utilisés afin de définir les autres propriétés des grains. Entre autres, ces indicateurs sont le taux de cendre, le taux d'humidité et l'indice de chute (Popper *et al.*, 2006). Le test du taux de cendre permet de déterminer la proportion de son dans la farine et la quantité de minéraux (Freund *et al.*, 2006). Le son est un terme utilisé pour définir l'enveloppe et le germe dans la farine. La proportion de son permet de classer les types de farines pour leurs ventes en épicerie de grande surface. Une farine contenant seulement l'albumen est une farine blanche, une farine complète contient l'albumen et l'enveloppe alors qu'une farine intégrale contient toutes les composantes du grain (Fiore *et al.*, 2017). Plus le taux de cendre est élevé, plus il y a de son dans la farine, elle est donc plus nutritive. Le taux d'humidité détermine la quantité d'eau dans la farine. Plus la farine

a une grande capacité d'absorption, plus cette farine est meilleure pour la production de pain, puisqu'il semble que le BEM soit corrélé positivement avec le taux d'humidité (Freund *et al.*, 2006). L'indice de chute mesure l'activité enzymatique du grain lors de la germination. En effet, c'est un indicateur de l'activité de l'amylase qui commence dès le début de la germination.

5 STRUCTURE DU MÉMOIRE

L'azote est un nutriment limitant la croissance des plantes agricoles et peut être acquis sous forme organique et inorganique par les plantes. Les microorganismes du sol décomposent l'azote organique en formes assimilables par les plantes et la quantité d'azote libérée lors de la décomposition dépend de la stœchiométrie des décomposeurs et de la matière organique décomposée. Les bactéries ont un ratio carbone : azote plus bas que les champignons. Les champignons ont donc besoin de moins d'azote que les bactéries pour le bon fonctionnement de leur métabolisme, entraînant une plus grande libération dans l'environnement lors de la décomposition de fertilisant organique, tel que le compost.

5.1 Hypothèse

L'hypothèse principale de ce mémoire est que certains intrants organiques avec un ratio C: N élevé augmenteront le ratio champignon : bactérie, ce qui améliorera la qualité des grains de blé.

5.2 Objectifs

Afin de tester l'hypothèse ci-dessus, ce projet a été divisé en trois objectifs.

Augmenter le ratio champignon : bactérie (C: B) du sol à l'aide de différents intrants de matière organique.

Augmenter la qualité des grains de blé par les intrants augmentant le plus le ratio C: B.

Vérifier s'il y a un lien entre le ratio C: B et la qualité des grains de blé dans des champs en production.

5.3 Approche méthodologique

Une étude de corrélation et deux expériences ont été effectuées afin de tester l'hypothèse principale. Ces trois volets sont complémentaires et se retrouvent au chapitre 6.

5.3.1 Étude de corrélation entre le ratio Champignons : Bactéries et la qualité des grains

Une étude de corrélation entre le ratio C: B et les différents indices de qualité du grain de blé a été réalisée sur des échantillons de sol éloigné provenant de 33 champs à travers le Québec, échantillonnés au début de la saison 2018. Les grains ont été récoltés à la fin de la saison et les indices de qualité des grains provenant de chacun des champs ont été mesurés par le laboratoire de contrôle qualité de la meunerie Les Moulins de Soulanges (St-Polycarpe, Qc). L'ADN des échantillons a été préalablement extrait par des collègues de laboratoire et des PCR en temps réel ont été effectuées afin de déterminer le ratio champignon : bactérie. Les bactéries ont été quantifiées en amplifiant la région V4 du gène ribosomique 16S et les champignons ont été quantifiés en amplifiant le *fungus internal transcribed spacer region 1* (ITS1). Par la suite, des analyses de corrélation ont été effectuées dans le logiciel R afin de déterminer s'il existe des corrélations significativement positives entre le ratio champignons : bactéries et les différents indices de qualité de grain.

5.3.2 Expérience en pot

Une expérience en pot a été effectuée dans une salle de croissance, où trois différents types de sol (agricole, forestier et commercial) ont été mélangés à cinq différents intrants de matière organique et un contrôle sans ajout de matière organique. Un total de 18 combinaisons de sols et traitements ont été répétées 5 fois pour un total de 90 pots (Figure 5.1). Les pots ont été échantillonnés à 2, 4, 6, 8, 12 et 16 semaines et l'ADN a été extrait à l'aide du DNeasy powerlyzer powersoil kit (QIAGEN). Les ratios champignon : bactérie ont été déterminés à l'aide de PCR en temps réel en ciblant les mêmes régions que l'étude de corrélation. Par la suite, des ANOVA ont été effectuées dans le logiciel R afin de déterminer quels traitements de matière organique ont augmenté le ratio champignon : bactérie.

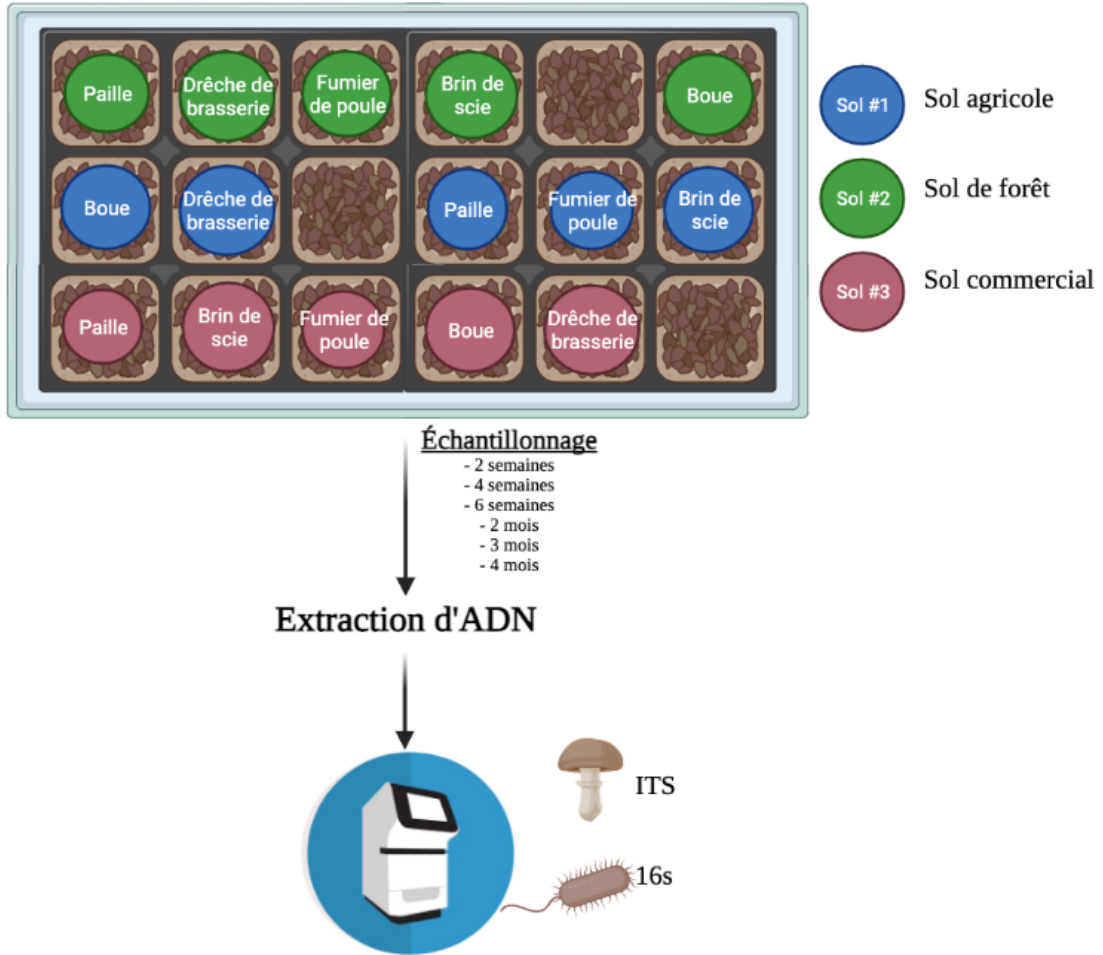


Figure 5.1 : Méthodologie de l'expérience en pot

5.3.3 Expérience au champ expérimental

Après avoir déterminé quels traitements de matière organique avaient significativement changé le ratio champignon : bactérie, la drêche de microbrasserie et la boue de désencrage (résidu de pâte et papier) ont été appliquées, avec du compost, sur un champ expérimental situé sur le campus de l'INRS, centre Armand-Frappier Santé et Biotechnologie. Six traitements différents ont été répliqués 5 fois pour un total de 30 parcelles de 1m² (Figure 5.2). Du blé cultivar Walton a été semé et, toutes les deux semaines, le sol éloigné et la rhizosphère ont été récoltés. Par la suite, tout comme l'expérience en pot, l'ADN a été extrait et le ratio champignon : bactérie a été déterminé à l'aide de PCR en temps réel en ciblant les mêmes régions. Par la suite, des ANOVA pour mesures répétées ont été effectuées dans le logiciel R afin de déterminer quels traitements de matière organique avaient augmenté le ratio champignon : bactérie au fil du temps. À la fin de la saison de croissance, le blé de chacune des parcelles a été récolté et les grains ont été analysés par le laboratoire de contrôle qualité de la meunerie Les Moulins de Soulange afin de mesurer les différents indices de qualité des grains de blé.

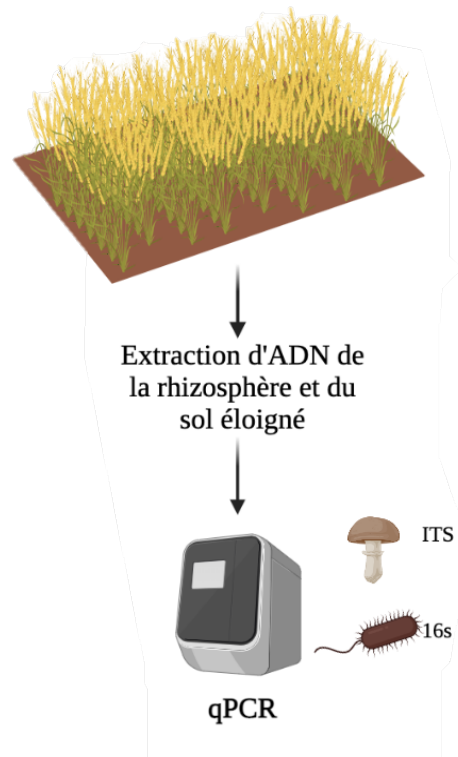


Figure 5.2 : Méthodologie de l'expérience au champ expérimental

6 MANIPULATION OF THE SOIL FUNGAL: BACTERIAL RATIO TO INCREASE THE WHEAT GRAIN BAKING QUALITY

Titre de l'article :

Manipulation du ratio Champignon : Bactérie du sol pour augmenter la qualité boulangère des grains de blé

Auteurs :

Emmy L'Espérance¹ , Étienne Yergeau¹

Affiliation professionnelle :

1 : Centre Armand-Frappier Santé Biotechnologie, Institut national de la recherche scientifique, Laval H7V 1B7, Québec, Canada

Titre de la revue ou de l'ouvrage :

Federation of European Microbiological Societies (FEMS) Microbiology Ecology

État actuel:

Soumis

Contribution des auteurs :

Emmy L'Espérance et Étienne Yergeau ont élaboré les plans expérimentaux pour l'expérience en pot et au champ. Emmy L'Espérance a effectué toutes les manipulations pour l'expérience en pot et au champ (échantillonnage, extraction d'ADN, PCR quantitative). Elle a aussi effectué les PCR quantitative pour l'étude de corrélation. Elle a effectué toutes les analyses statistiques. Finalement, Emmy L'Espérance et Étienne Yergeau ont écrit l'article.

6.1 Abstract

Fungal biomass has a higher C: N ratio than bacterial biomass, and we hypothesized that increasing the soil F: B ratio through specific amendments would result in an increased release of nitrogen and an enhanced wheat grain baking quality. In a pot experiment, we were able to increase the soil F: B ratio (measured by qPCR) of three contrasting soils using various amendments, with especially strong effects of paper mill residues and spent brewery grain. When these amendments were used in a wheat field experiment, they also increased the soil F: B ratio, but they either had no effect (spent brewery grain) or had a negative effect (paper mill residue) on the wheat grain baking quality. A survey of 33 wheat fields distributed across the province of Québec resulted in no correlation between grain baking quality and soil F: B ratio, but a significant correlation with bacterial abundance. Taken together, our results showed that it is possible to modulate the soil F: B ratio, but that its increase does not necessarily result in an improved wheat grain quality. Temporal patterns, low organic N availability and shifts in community composition could potentially explain this lack of correlation.

Key words: Microorganisms, Microbial ecology, Microbiome engineering, Agriculture, Organic matter

6.2 Introduction

Indiscriminate inorganic nitrogen (N) fertilization is central to the environmental issues facing agriculture. Partly because of soil microbial activities, the applied N is not used by plants, but rather leaches or returns to the atmosphere. Organic fertilizers are seen as a potential solution to these problems as the N it contains is mainly in the form of proteins, chitin, and peptidoglycans, and is, therefore, less mobile. In addition, organic fertilization not only provides nutrients to the soil but also increases water-holding capacities and microbial activities (Robertson *et al.*, 2015). However, the N contained in organic fertilizers is not directly available for plant uptake, and it needs to be released during decomposition by microorganisms. Nitrogen resulting from decomposition can be immobilized for microbial needs, or released in the form of ammonium, amino acids or oligomers (Geisseler *et al.*, 2010; Nasholm *et al.*, 2009). For agricultural production, the latter case is desired, but since organic fertilizers also stimulate microbial activities and growth, a large part of the N it contains is often immobilized by microbes and does not reach the plant. The amount of nitrogen released during the decomposition of organic matter will depend on environmental conditions and on the stoichiometry of the organic matter and the decomposing microorganisms (de Vries *et al.*, 2006).

Bacteria and fungi make up over 90 % of the soil microbial biomass (Bossuyt *et al.*, 2001). Both groups can degrade soil organic matter (SOM) but they have different elemental demands and different growth efficiencies. Fungi use organic matter more efficiently and have a lower N demand than bacteria. Indeed, bacteria have a C: N ratio varying from 3:1 to 6:1 and fungi have a C: N ratio varying from 5:1 to 15:1 (Strickland *et al.*, 2010). Fungi are also less resistant to intense harvests, the overuse of inorganic nitrogen fertilizers and tillage (Camberato *et al.*, 2006; Vandenkoornhuysen *et al.*, 2015). Thus, the fungal decomposition is more important when the nitrogen content of SOM is low and will release more nitrogen (Chapin *et al.*, 2002). Increasing the fungi: bacteria ratio in agricultural soils amended with organic fertilizers could thus result in a more efficient release of N from the applied organic matter that would then be available for plant use.

However, modifying complex microbial communities is a daunting task. A recently published theoretical framework suggested that modifying microbial communities already in place is ecologically sounder than inoculations (Agoussar *et al.*, 2021b). One way to do such modifications in the agricultural context is with specific amendments. Amendments with high C: N ratios or high concentrations of lignocellulolytic compounds are thought to favour the growth of fungi (Clocchiatti *et al.*, 2021; Camberato *et al.*, 2006; Vandenkoornhuysen *et al.*, 2015). Many such amendments are waste products like deinking sludge, a paper mill residue, spent brewery grain, manure or municipal compost. They have different C: N ratios that will influence the microbial community (Bossuyt *et al.*, 2001; Rousk *et al.*, 2007). For instance, paper mill residues have a C: N ratio varying from 70:1 to 240:1 which should theoretically favour fungal growth over bacteria. The addition of another organic amendment with a lower C: N ratio, like compost (20: 1 to 30: 1), could lead to enhanced depolymerization of organic N by fungi (Brust, 2019).

We hypothesized that because of their high C: N ratio, spent brewery grain, deinking sludge, straw, or wood chips will increase the soil F: B ratio, resulting in an increased release of nitrogen because of the higher C: N ratio of fungi, which will ultimately enhance wheat growth and grain baking quality. To test this hypothesis, we conducted two experiments, the first one in pots to identify organic amendments that increased the F: B ratio and the second one using these amendments on field-grown wheat, together with a survey of wheat fields in Quebec. In each case, we measured the soil F: B ratio using quantitative real-time PCR, and, when present, grain baking quality.

6.3 Material & Methods

6.3.1 Experiment 1: Wheat field survey

With this experiment, we aimed at testing if the soil F: B ratio early in the growing season was correlated with the grain quality of wheat grown under production conditions. A total of 80 fields across Quebec were sampled in May-June 2018 (Asad et al., 2021). The fields were under various management, seeded with different varieties and distributed across a transect of more than 500km. From these 80 fields, we were able to retrieve grain samples for analysis from 33 of them.

6.3.2 Experiment 2: soil incubation experiment

With this experiment, we tested the ability of five organic amendments (spent brewery grain, paper mill residue, straw, sawdust, and chicken manure) to modify the fungal: bacterial ratio in three different soils substrates (agricultural, forest and potting). We used three different soil substrates to test if each substrate alone had an impact on the F: B ratio. The agricultural soil was collected from the Armand-Frappier Experimental Field (Laval, Qc), the coniferous forest soil was collected in Val-David (Québec), and the potting soil (Pro-Mix, Premier Tech, Rivière-du-Loup, Qc) was purchased in a local store. The spent brewery grain (C: N ratio 11:1) came from the Boswell microbrewery (Montreal, Qc), the paper mill residue (C: N ratio 112:1) comes from Cascade inc. (Kingsey Falls, Qc), the chicken manure (C: N ratio 10:1) from Acti-sol (Notre-Dame-du-Bon-Conseil, Qc), the straw (C: N ratio 53:1) was given by a local farmer (Berthierville, Qc) and the sawdust (C: N ratio 664:1) was collected at a sawmill (Tremblant, Qc). Amendments were chosen according to the C: N ratio found in the literature (Assandri *et al.*, 2020; Fierro *et al.*, 1999; Huang *et al.*, 2004; Larney *et al.*, 2003). The amendments were added at a rate of 10.56% (w/w) to each soil and thoroughly mixed. The amended soils and an unamended control were then distributed in 4 L pots, resulting in 18 treatments (3 soils x 5 amendments + control), that were replicated in 5 fully randomized blocks, for a total of 90 pots. The pots were covered with plastic sheets to prevent water content evaporation and incubated at room temperature in the dark for 4 months. The soil water content of each pot was adjusted every two weeks to maintain the water content at about 70% of the soil water holding capacity (WHC). Each pot was sampled at 2, 4, 6, 8, 12 and 16 weeks by taking 5 g of soil, for a total of 540 samples. The samples were kept at -20°C until DNA extraction.

6.3.3 Experiment 3: Wheat field experiment

With this experiment, we tested the ability of the amendments that most increased the F: B ratio in experiment 2 to improve wheat N nutrition under organic field conditions. On June 10th, 2021, thirty 1m x 1m plots (with 1 m rows between them) were delineated in the Armand-Frappier Experimental Field and amended with spent brewery grain, paper mill residues or nothing. The amended plots received the equivalent of 30 tons per hectare of amendments that were thoroughly mixed in the first 15 cm of soil. Simultaneously, half the plots received 30 tons per hectare of municipal compost (Repentigny, Québec), resulting in 6 treatments that were replicated in 5 completely randomized blocks. Five hundred seeds of *Triticum aestivum* variety Walton (Semence Nicolet, Nicolet, Québec) were then seeded in each plot. Bulk soil was sampled from each plot after 0, 2, 4, 6, 8, 10, and 12 weeks, by mixing approximately 25 g of soil taken from each corner and the center of each plot, resulting in 210 bulk soil samples. At the same time (except at T=0, 2 and 4), one to three wheat plants were uprooted from each plot. The rhizosphere was collected and combined using sterile forceps after vigorously shaking the roots, resulting in 180 rhizosphere samples, for a total of 390 samples. Bulk soil and rhizosphere were kept at -20°C until further analysis. On September 16th, 2021, the wheat was harvested, and the grains were kept in sterile bags at room temperature before sending them out for analysis.

6.3.4 DNA extraction and Real-Time PCR

For experiments 1 and 2, DNA was extracted from 0.25g of bulk and rhizosphere soil samples using the DNeasy PowerLyzer power soil kit (Qiagen) following manufacturer's protocol. DNA from experiment 3 was previously extracted (Asad *et al.*, 2021). We used real-time quantitative PCR for the determination of the F: B ratio. For bacteria, the V4 region of the 16S rRNA gene was quantified using the 515F and 806R primers (Schlaeppi *et al.*, 2020), whereas the fungal internal transcribed spacer region 1 (ITS1) was quantified using the ITS1F and 58A2R primers (Martin *et al.*, 2005). The real-time PCR was performed in 20 µL reactions containing 300nM of each primer, 1x of iTaq Universal SYBR Green Supermix (Biorad) and 1 ng of template DNA. Thermal cycling conditions for bacteria and fungi were as follows: polymerase activation and DNA denaturation at 95°C for 5 min, amplification step with 40 cycles with denaturation at 95°C for 45 seconds, annealing at 55°C for 50 seconds and the plate read at 72°C for 50 seconds. The standard curve for the 16S rRNA gene was prepared by diluting (10⁸–10¹ copies/µL) 16S rRNA gene amplicons of *Escherichia coli* 25922 made using primers PA-27F-YM and PH-R (Bruce *et al.*, 1992). For the fungal ITS region, the standard curve was prepared from serial dilutions of ITS region amplicons

from the yeast *Pichia scolyti* using the primers NSA3 and NLC2 (Martin *et al.*, 2005). The fungi:bacteria ratios were calculated by dividing the ITS1 copy numbers by the 16S rRNA copy number.

6.3.5 Grain yield and baking quality

Grains collected from experiments 2 and 3 were sent to the quality control laboratory of Les Moulins de Soulanges (St-Polycarpe, Qc) for baking quality analysis. Grain protein content, grain humidity, grain ash content and grain gluten content were measured using a FOSS apparatus. The flour peak maximum time (PMT) and the flour maximum recorded torque (BEM) was determined using a Glutopeak machine.

6.3.6 Statistical analysis for the pot experiment

All statistical analysis and figures were performed in R (v.4.0.3, GUI 1.73, Catalina build). For the evaluation of significant interaction between treatments, and type of soil at each time point, a two-way ANOVA was performed for explaining the F: B ratio. Before performing those analyses, the normality was checked by the Shapiro-Wilk test and the homogeneity of the variance was checked by the bartlett.test. All these assumptions were verified and if assumptions were not reached, log, square root or box cox transformation was performed. For the comparison between each input and soil type, the TukeyHSD test was performed.

6.3.7 Statistical analysis for the field experiment

For the evaluation of significant interaction between compost, treatments, and time for explaining the fungi: bacteria ratio, a three-way repeated-measures ANOVA was performed on rhizosphere and bulk soil samples. Before performing RM-ANOVA, the normality was checked by the Shapiro-Wilk test, the sphericity was checked with Mauchly's test and outlier samples were removed from the dataset. All these assumptions were verified using the rstatix package. If assumptions weren't reached, log, square root or box cox transformation was performed. For the determination of the difference between each time point and the difference between each organic input, a pairwise t-test was performed.

6.3.8 Statistical analysis for the survey experiment

For the evaluation of any correlation between wheat grain quality and the fungi: bacteria ratio, we attempted to perform Pearson's correlations. Unfortunately, the data of the survey experiment

were not binormal, even after data transformation. Therefore, a Spearman's rank correlation was performed between each quality parameter, F: B ratio, and number of ITS and 16S copies.

6.4 Results

6.4.1 Wheat field survey: correlation between F: B ratio and grain parameters

We measured the F: B ratio in the 33 bulk soil samples of the survey of Asad et al. 2021, for which we had retrieved grain at the end of the growing season and correlated the values with the grain yield and baking quality parameters previously measured (Asad *et al.*, 2021). There were no significant correlations between grain yield, baking quality and F: B ratio ($P > 0.05$). The number of 16S rRNA gene copies was significantly negatively correlated with protein and gluten content, BEM and Zeleny number (Table 6.1).

Table 6.1: Spearman correlations for the wheat field survey

		Correlation factor	P-value	
16S copies	PMT	0.487	1.31e-02	*
	Amidon %	0.356	1.18e-02	*
	Zeleny %	-0.358	1.40e-02	*
	Gluten content	-0.351	1.85e-02	*
	Protein content	-0.343	2.11e-02	*
	BEM	-0.374	2.97e-02	*
F: B Ratio	16S copies	-0.0238	8.72e-01	
	PMT	0.0492	8.28e-01	
	Amidon %	-0.202	2.08e-01	
	Humidity %	-0.187	5.67e-01	
	Zeleny %	0.0327	5.24e-01	
	Gluten content	0.0443	4.73e-01	
	Protein content	0.0474	5.53e-01	
	BEM	0.0477	4.87e-01	
	Impurity %	0.343	4.25e-01	

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$

6.4.2 Soil incubation experiment: Effect of soil type and amendments on the F: B ratio

We amended three different soil substrates (forest, agricultural and commercial) with five different inputs (spent brewery grain, chicken manure, paper mill residues, sawdust, and straw). Each combination of soil and amendments was sampled over time and two-way ANOVA tests with corresponding post-hoc tests were performed at each incubation time because repeated measures ANOVA test assumptions were not met. At 2 weeks, amendments and soil type did

significantly affect the F: B ratio (Table 6.2), with sawdust and spent brewery grain significantly increasing the F: B ratios, across all soil types (Table 6.3). At 4 weeks, amendments and soil type significantly changed F: B ratios (Table 6.2), but only the spent brewery grain significantly increased the F: B ratio in comparison to the no treatment control (Table 6.3). At 6 weeks, the spent brewery grain, the paper mill residue, the sawdust, the straw, and the chicken manure had a significantly higher F: B ratio than the no input control (Table 6.3). At this time point, soil type did not have any significant effect on the F: B ratios. At 8 weeks, across all soils, there was no significant effect of treatment, but soil type did influence the F: B ratio. Finally, at 12 and 16 weeks, amendments and soil type did have a significant effect on the F: B ratios. The forest soil had a higher F: B ratio at each sampling time than the other two types of soil (Fig. 6.2). Indeed, statistical tests showed that the forest soil was significantly different from the agricultural and the commercial soil. However, the agricultural and commercial soils were not significantly different from each other in terms of the F: B ratio (Table 6.3). Finally, the amendments did have a significant effect on the F: B ratios, which means that they did increase the ratios.

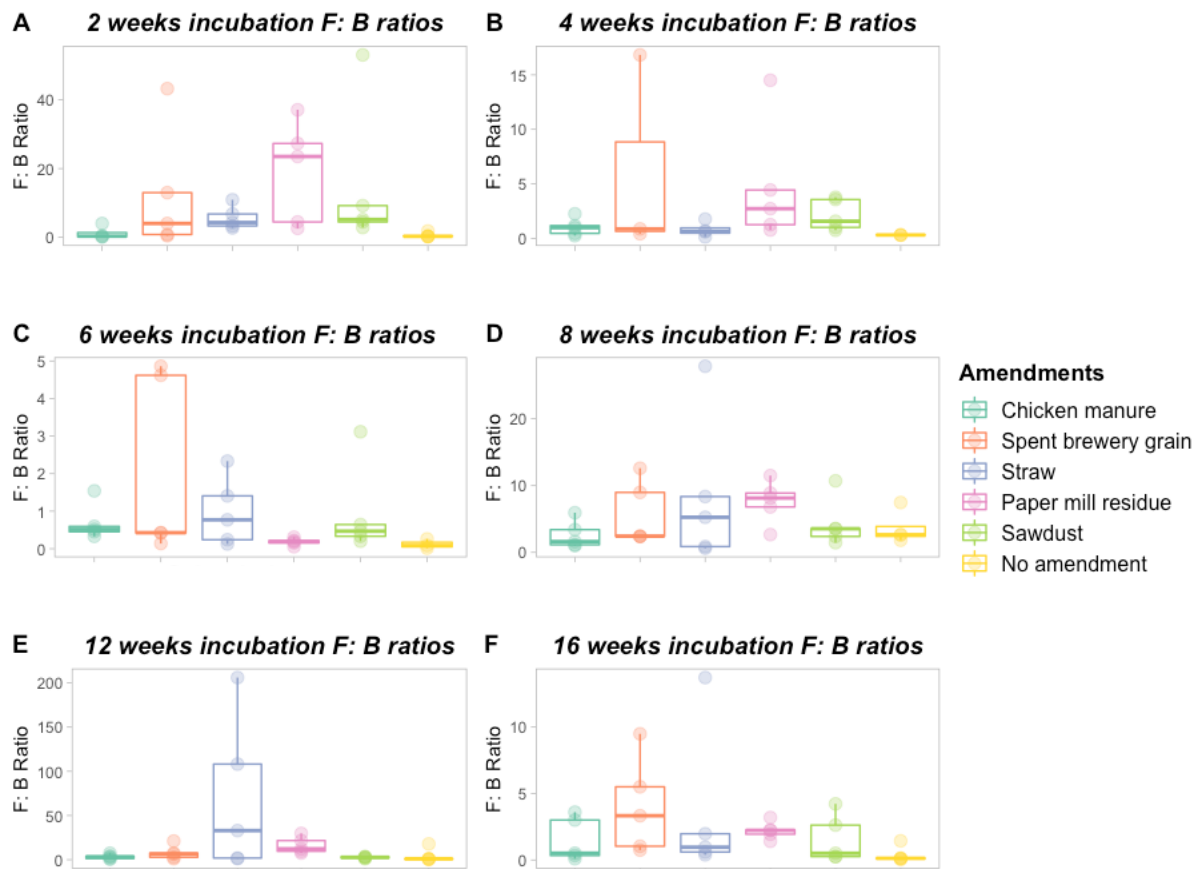


Figure 6.1: F: B Ratios of each amendment in agricultural soil at each incubation time.

(A) F: B ratios at 2 weeks of incubations (B) F: B ratios at 4 weeks of incubation (C) F: B ratios at 6 weeks of incubation (D) F: B ratios at 8 weeks of incubation (E) F: B ratios at 12 weeks of incubation (F) F: B ratios at 16 weeks of incubation.

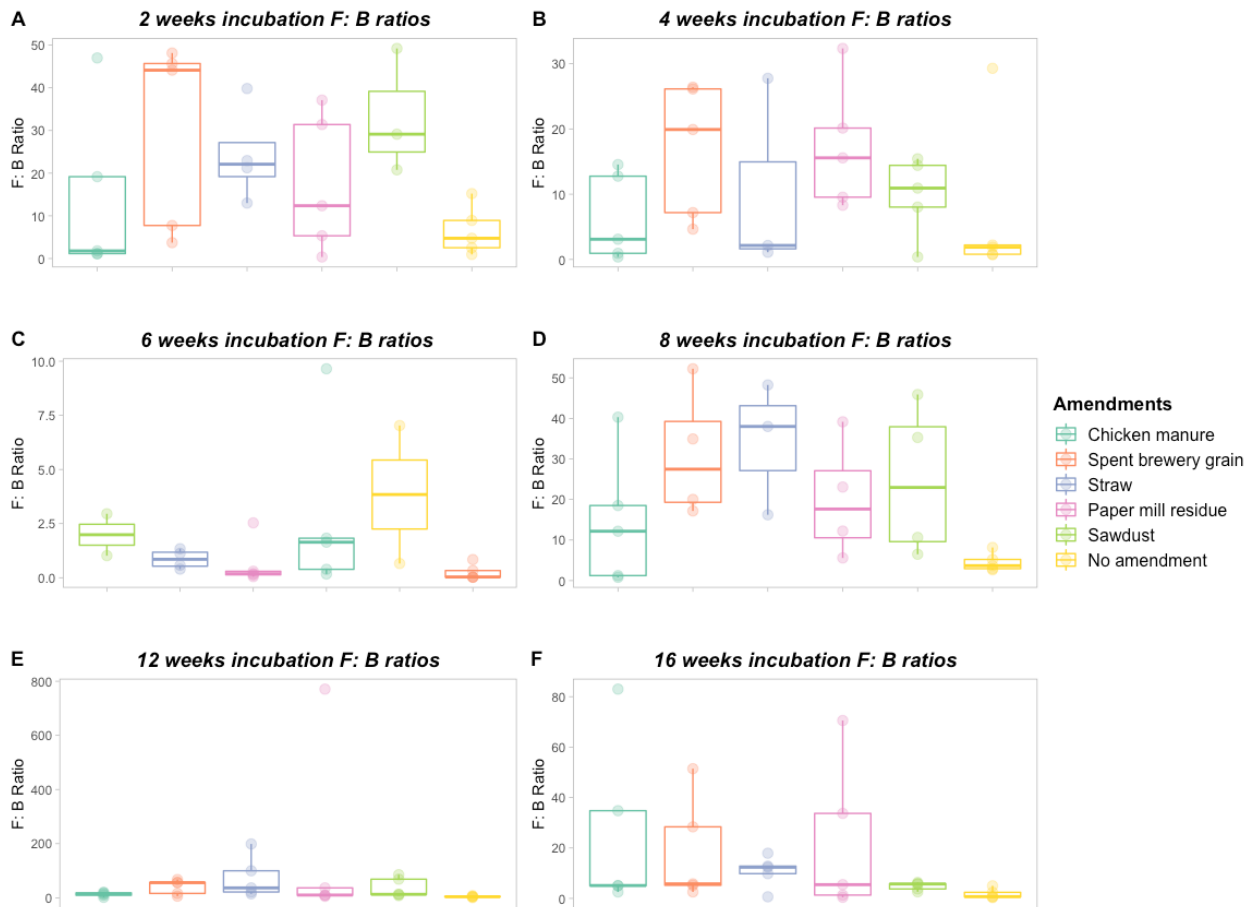


Figure 6.2: F: B Ratios of each amendment in forest soil at each incubation time.

(A) F: B ratios at 2 weeks of incubations (B) F: B ratios at 4 weeks of incubation (C) F: B ratios at 6 weeks of incubation (D) F: B ratios at 8 weeks of incubation (E) F: B ratios at 12 weeks of incubation (F) F: B ratios at 16 weeks of incubation.

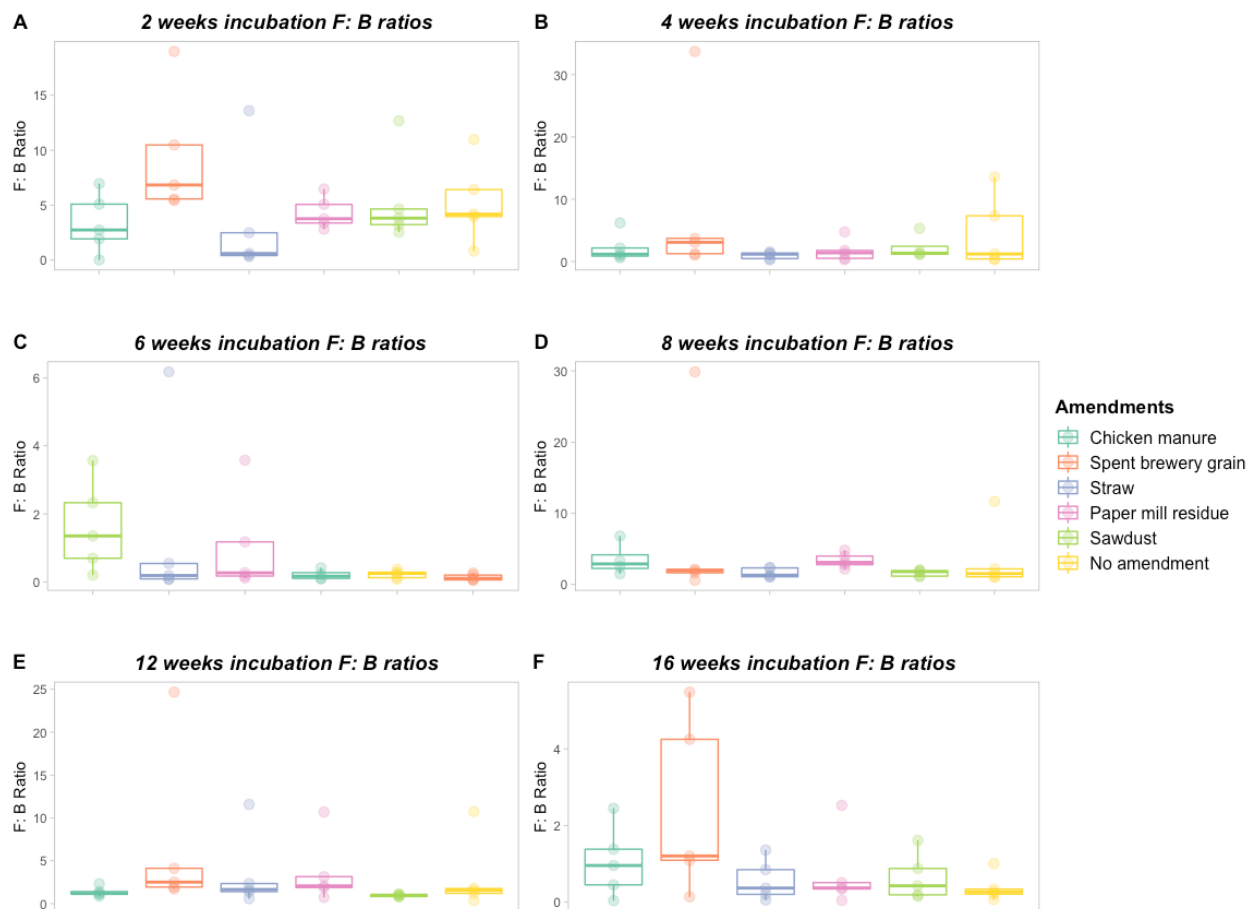


Figure 6.3: F: B Ratios of each amendment in potting soil at each incubation time.

(A) F: B ratios at 2 weeks of incubations (B) F: B ratios at 4 weeks of incubation (C) F: B ratios at 6 weeks of incubation (D) F: B ratios at 8 weeks of incubation (E) F: B ratios at 12 weeks of incubation (F) F: B ratios at 16 weeks of incubation

Table 6.2: ANOVA table for the effect of amendments and soil type for the soil incubation experiment at each incubation time

	2 weeks			4 weeks			6 weeks		
	F value	P-value		F value	P-value		F value	P-value	
Amendments	5.266	0.000412	***	4.499	0.00151	**	7.603	1.51e-05	***
Soil	9.651	0.000217	***	17.237	1.22e-06	***	2.687	0.0765	
Block	2.079	0.0939		5.093	0.00134	**	6.851	0.000138	***
Amendments + Soil	1.932	0.0566		0.948	0.497		2.442	0.0166	*
	8 weeks			12 weeks			16 weeks		
	F value	P-value		F value	P-value		F value	P-value	
Amendments	2.197	0.0661		6,714	3.87e-05	***	5.313	0.000353	***
Soil	33.311	1.67e-10	***	29.826	5.02e-10	***	30.514	3.48e-10	***
Block	4.692	0.00229	**	3.484	0.012	*	3.076	0.0217	*
Amendments + Soil	2.294	0.0233	*	1.424	0.189		0.772	0.655	

*: P<0.05; **: P<0.01; ***: P<0.001

Table 6. 3: Post-hoc Tukey HSD pairwise comparisons for soil types and amendments for the soil incubation experiment at each incubation time

	2 weeks		4 weeks		6 weeks	
	Adjusted p-value					
Spent brewery grain-No input	0.0393	*	0.0207	**	0.0000373	***
Paper mill residue-No input	0.0889		0.125		0.000597	***
Sawdust-No input	0.0477	*	0.462		0.00821	**
Chicken manure - No input	0.997		0.999		0.0421	*
Straw-No input	0.509		0.996		0.00798	**
Agricultural soil - Forest soil	0.00111	**	0.0000017	***	0.347	
Agricultural soil - Commercial soil	0.954		0.456		0.779	
Forest soil - Commercial soil	0.00255	**	0.0000858	***	0.108	
	8 weeks		12 weeks		16 weeks	
	Adjusted p-value					
Spent brewery grain-No input	0.252		0.00668	**	0.0000472	***
Paper mill residue-No input	0.162		0.00167	**	0.00933	**
Sawdust-No input	0.915		0.518		0.0848	
Chicken manure - No input	0.999		0.787		0.0108	*
Straw-No input	0.893		0.000310	***	0.0199	*
Agricultural soil - Forest soil	0.0000051	***	0.0000532	***	0.0000012	***
Agricultural soil - Commercial soil	0.0812		0.0137	*	0.0872	
Forest soil - Commercial soil	0.0000000	***	0.0000000	***	0.0000000	***

*: P<0.05; **: P<0.01; ***: P<0.001

6.4.3 Field experiment: F: B ratios in the bulk soil

We amended wheat plots with spent brewery grain or paper mill residue with or without manure and sampled the bulk and rhizosphere soil every two weeks for 12 weeks. Three-way repeated measures ANOVA tests were performed with, corresponding post hoc tests and revealed that amendments and time did significantly affect the F: B ratio, whereas the input of organic matter had no effect (Table 6.4, Fig. 6.4). Indeed, after two weeks spent brewery grain and paper mill residue significantly increased F: B ratios (Table 6.5, Fig. 6.4). At 4 weeks and 6 weeks, only the paper mill residue was significantly increasing the F: B ratio (Table 6.5, Fig. 6.4). At 8, 10 and 12 weeks, both organic inputs, spent brewery grain and paper mill residue had a significantly higher F: B ratio than the no treatment control (Table 6.5, Fig. 6.4).

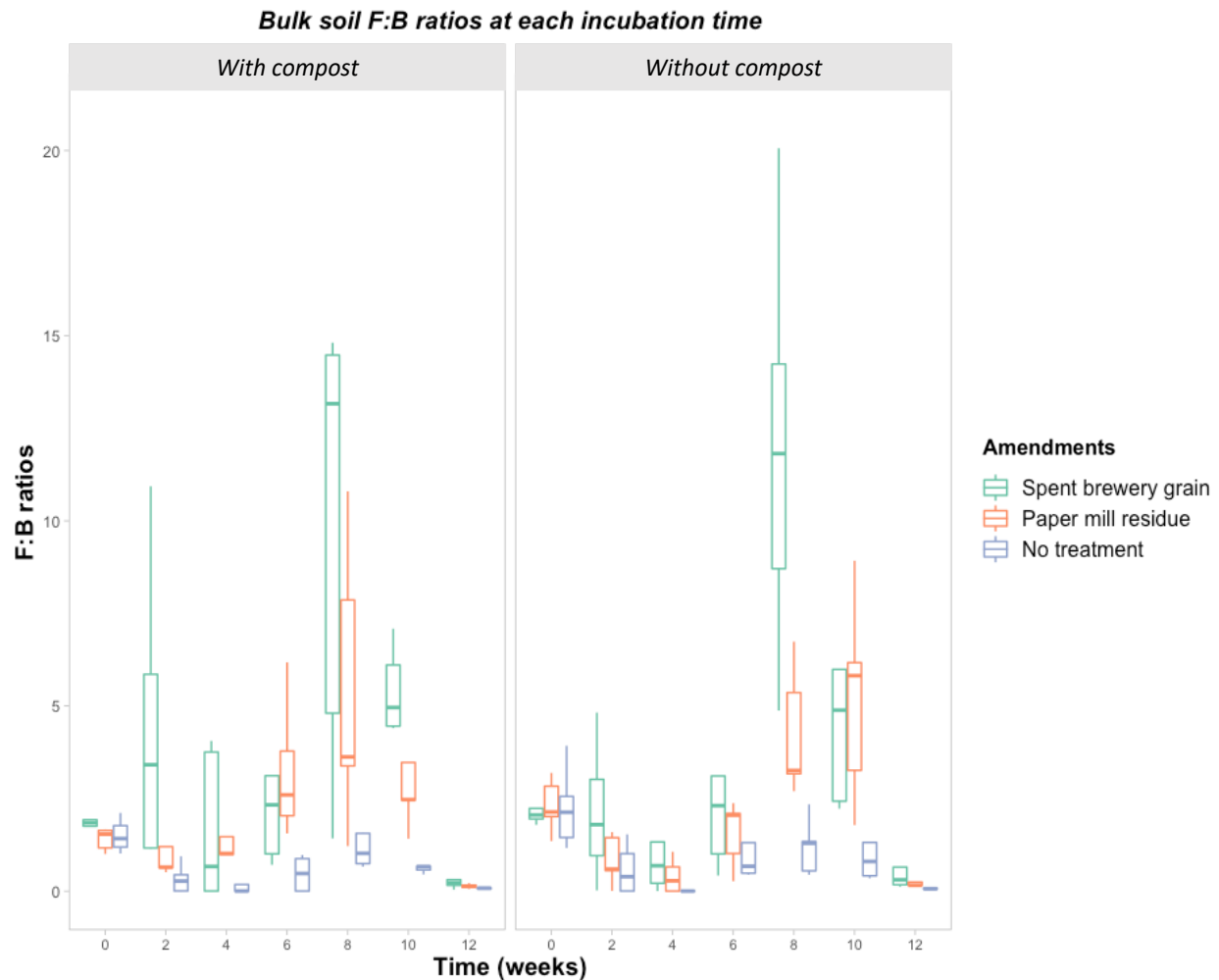


Figure 6.4: F: B ratios of wheat bulk soil amended with spent brewery grain or paper mill residues, with or without compost over the course of 12 weeks.

Table 6.4: Repeated-measures ANOVA table for the bulk soil of the field experiment

	F value	P-value	
Amendments	69.699	9.67e-10	***
Compost	0.024	0.877	
Time	29.099	<2e-16	***
Block	2.725	0.0584	
Amendments + Compost	1.230	0.314	
Amendments + Time	1.959	0.0321	*
Time + Compost	1.135	0.345	
Amendments + Compost +Time	0.993	0.458	

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$

Table 6.5: Post-hoc Tukey HSD pairwise comparisons for the effects of amendments at each sampling date with and without compost addition for the bulk soil of the field experiment

		0	2	4	6	8	10	12
		weeks	weeks	weeks	weeks	weeks	weeks	weeks
		Adjusted p-value						
Compost	Spent brewery grain-No treatment	1	0.031 *	0.375	0.045 *	0.165	0.077	0.178
	Spent brewery grain-Paper mill residue	0.492	0.130	1	1	1	0.192	0.72
	Paper mill residue-No treatment	0.801	0.02 *	0.444	0.126	0.045 *	0.01 *	0.348
No compost	Spent brewery grain-No treatment	1	0.591	0.234	1	0.063 *	0.14	0.225
	Spent brewery grain-Paper mill residue	1	0.951	0.348	0.87	0.019 *	1	1
	Paper mill residue-No treatment	1	0.046 *	0.126	0.143	0.03 *	0.183	0.173

*: P<0.05; **: P<0.01; ***: P<0.001

6.4.4 Field experiment: F: B ratios in the rhizosphere

The rhizosphere of each wheat plot was also sampled over time and three-way repeated measures ANOVA tests and associated post hoc tests were performed. Amendments and time did significantly affect the F: B ratio (Table 6.6, Fig. 6.5). Furthermore, amendment, time and compost presence did interact with each other and significantly changed the F: B ratio (Table 6.6, Fig. 6.5). At 6 weeks, the spent brewery grain with compost and the paper mill residue with and without compost significantly affected the F: B ratio (Table 6.7, Fig. 6.5). At 8 weeks, paper mill residues with compost significantly changed the F: B ratio and finally, at 10 weeks, the spent brewery grain without compost significantly increased the F: B ratio in the rhizosphere (Table 6.7, Fig. 6.5).

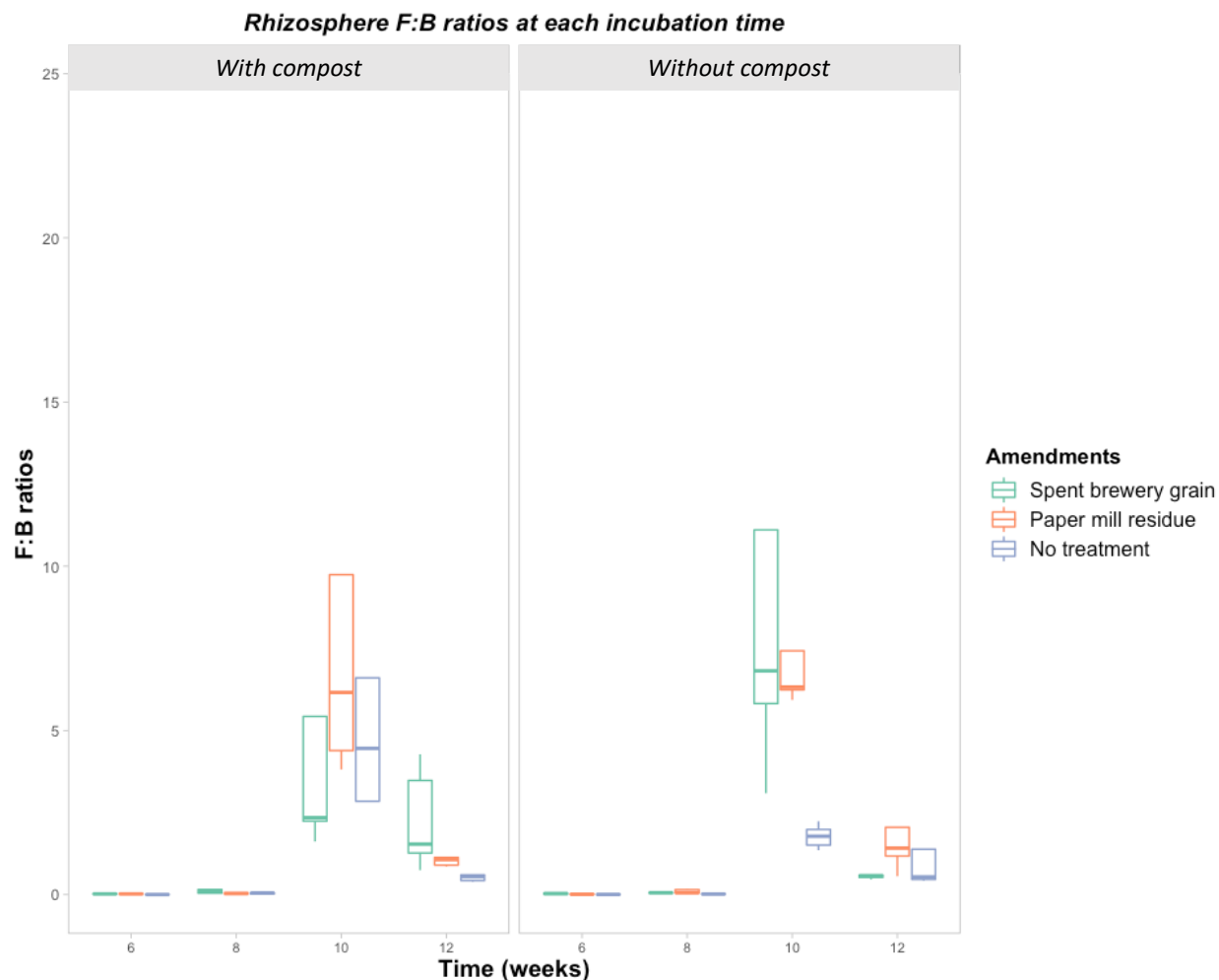


Figure 6.5: F: B ratios of wheat rhizosphere amended with spent brewery grain or paper mill residues, with or without compost over the course of 12 weeks.

Table 6.6: Repeated-measures ANOVA table for the rhizosphere of the field experiment

	F value	P-value	
Amendments	10.108	0.00114	**
Compost	0.042	0.839	
Time	6.739	0.00654	**
Block	1.410	0.271	
Amendments + Compost	0.276	0.762	
Amendments + Time	2.089	0.0653	
Time + Compost	0.145	0.933	
Amendments + Compost +Time	3.892	0.00207	**

*: P<0.05; **: P<0.01; ***: P<0.001

Table 6.7: Post-hoc Tukey HSD pairwise comparisons for the effects of amendments at each sampling date with and without compost addition for the bulk soil of the field experiment

		6 weeks	8 weeks		10 weeks	12 weeks
		Adjusted p-value				
Compost	Spent brewery grain-No treatment	0.019 *	1	1	0.369	
	Spent brewery grain-Paper mill residue	1	0.216	0.531	1	
	Paper mill residue-No treatment	0.012 *	0.048 *	1	0.061	
No compost	Spent brewery grain-No treatment	0.561	0.372	0.003 **	1	
	Spent brewery grain-Paper mill residue	1	1	1	0.041	
	Paper mill residue-No treatment	0.039 *	0.564	0.05	0.882	

*: P<0.05; **: P<0.01; ***: P<0.001

6.4.5 Field experiment: correlation between F: B ratio and grain parameters

At the end of the growing season, wheat seeds were harvested, weighted for yield measurement, and sent for grain baking quality analysis. Main grain and flour parameters (protein content, gluten content and BEM) were measured at the end of the growing season and two-way ANOVA tests with corresponding posthoc tests were performed. Paper mill residue did significantly affect the protein content and the BEM (Table 6.8).

Table 6.8: ANOVA table for the effect of amendments and compost fertilization on the main wheat grain quality parameters for the field experiment

	Protein content		Gluten content		BEM		PMT	
	F value	P-value	F value	P-value	F value	P-value	F value	P-value
Amendments	9.428	0.00131 **	2.282	0.129	5.862	0.0104 *	0.361	0.702
Compost	0.971	0.336	2.011	0.172	0.721	0.406	2.791	0.110
Block	2.744	0.0572	2.12	0.118	2.852	0.0524	0.587	0.676
Amendments + Compost	0.190	0.828	0.128	0.881	0.151	0.861	0.404	0.673

*: P<0.05; **: P<0.01; ***: P<0.001

Table 6.9 Post-hoc Tukey HSD pairwise comparisons of amendments and organic matter for the main grain quality parameters for the field experiment

		Protein content	Gluten content	BEM	PMT	
		Adjusted p-value				
Amendments	Spent brewery grain-No treatment	0.156	0.978	0.492	0.683	
	Spent brewery grain-Paper mill residue	0.000901 ***	0.151	0.00845 ***	0.859	
	Paper mill residue-No treatment	0.0657	0.210	0.0878	0.948	
Organic matter	Compost-No compost	0.336	0.173	0.407	0.110	
Combined	Compost	Spent brewery grain-No treatment	0.498	0.999	0.996	0.981
		Spent brewery grain-Paper mill residue	0.0484 *	0.881	0.329	0.999
		Paper mill residue-No treatment	0.740	0.807	0.598	0.962
	No compost	Spent brewery grain-No treatment	0.928	0.997	0.852	0.996
		Spent brewery grain-Paper mill residue	0.0709	0.511	0.140	0.949
		Paper mill residue-No treatment	0.366	0.781	0.649	0.999

*: P<0.05; **: P<0.01; ***: P<0.001

Spearman correlations between F: B ratios (bulk soil and rhizosphere compartment) and grain quality and grain yield parameters did not reveal any significant correlations for the rhizosphere (Table 6.10, P>0.05). For the bulk soil, 2 weeks F: B ratios were negatively correlated with protein and gluten content and 4 weeks ratios were negatively correlated with the gluten content (Table 6.9).

Table 6.10: Spearman correlation between the F: B ratio and wheat grain quality indicators for the bulk soil of the field experiment

	0 weeks ratios		2 weeks ratios		4 weeks ratios		6 weeks ratios	
	Cor factor	P-value	Cor factor	P-value	Cor factor	P-value	Cor factor	P-value
PMT	-0.0433	9.43e-01	-0.0423	6.74e-01	0.210	3.54e-01	0.0955	9.73e-01
Humidity %	-0.0652	7.58e-01	-0.0972	9.54e-01	0.301	7.46e-01	-0.137	2.74e-01
IDC	0.091	4.15e-01	-0.287	3.43e-01	-0.120	1.49e-03 *	-0.101	1.55e-01
Cendre	0.212	3.67e-01	-0.342	1.41e-02 *	-0.259	3.64e-01	-0.0634	6.35e-01
Gluten content	0.070	6.08e-01	-0.338	1.18e-01	-0.219	5.97e-01	-0.188	5.77e-01
Protein content	0.063	9.94e-01	-0.144	1.73e-02 *	-0.479	3.14e-02 *	-0.124	6.17e-01
BEM	-0.116	6.82e-01	-0.0828	7.18e-01	-0.389	8.80e-03 *	0.0435	7.17e-01
	8 weeks ratios		10 weeks ratios		12 weeks ratios			
	Cor factor	P-value	Cor factor	P-value	Cor factor	P-value		
PMT	0.249	9.29e-01	0.0961	9.78e-01	0.192	7.71e-01		
Humidity %	0.159	2.56e-01	-0.0501	8.66e-01	-0.111	7.67e-01		
IDC	-0.0198	7.85e-01	-0.110	6.94e-01	0.194	8.42e-01		
Cendre	-0.136	2.92e-01	-0.0763	5.68e-01	-0.0561	3.87e-01		
Gluten content	0.0229	9.35e-01	0.105	4.55e-01	0.0819	4.48e-01		
Protein content	-0.158	6.25e-01	-0.0665	8.33e-01	-0.0501	6.22e-01		
BEM	-0.262	9.10e-02	-0.0288	7.60e-01	-0.0929	7.85e-01		

Cor factor: Correlation factor ; *: P<0.05; **: P<0.01; *: P<0.001**

Table 6.11: Spearman correlation between the F: B ratio and wheat grain quality indicators for the rhizosphere of the field experiment

	6 weeks ratios		8 weeks ratios		10 weeks ratios		12 weeks ratios	
	Cor factor	P-value	Cor factor	P-value	Cor factor	P-value	Cor factor	P-value
PMT	0.0901	4.63e-01	-0.242	3.87e-01	0.0556	2.58e-01	0.131	2.20e-01
Humidity %	0.00301	7.05e-01	-0.106	5.61e-01	-0.209	8.30e-01	0.119	6.40e-01
IDC	-0.00849	9.66e-01	0.009309	9.93e-01	-0.243	3.67e-01	0.147	2.17e-01
Cendre	-0.212	4.07e-01	-0.126	8.63e-01	-0.382	6.51e-02	-0.149	5.34e-01
Gluten content	-0.171	4.16e-01	-0.0465	5.54e-01	-0.0936	9.84e-01	-0.0854	4.91e-01
Protein content	0.0813	7.99e-01	-0.106	6.53e-01	-0.00137	8.41e-01	-0.0622	5.27e-01
BEM	-0.0233	4.59e-02 *	-0.0505	9.23e-01	0.128	4.86e-01	0.184	6.16e-01

Cor factor: Correlation factor; *: P<0.05; **: P<0.01; *: P<0.001**

6.5 Discussion

We hypothesized that the input of organic matter with a high C: N ratio would increase the soil F: B ratio, resulting in an increased release of nitrogen, which would ultimately enhance wheat grain baking quality. To test this hypothesis, we conducted two independent experiments: a pot experiment with different soil and different amendments and finally a wheat field experiment with two amendments chosen from the pot experiment results and an organic fertilizer. We also sought to confirm our results through a wheat field survey across Quebec. Confirming the first part of our hypothesis, we were successful to increase the soil F: B ratio in three very contrasting soils and directly in the field. Spent brewery grain and pulp mill residues were the two amendments that most strongly increased the soil F: B ratio. The second part of our hypothesis was not as clearly confirmed. Although the amendments generally increased soil and rhizosphere F: B ratios in the field, it did not result in an increased wheat grain baking quality. In fact, the pulp mill residues amendment significantly reduced the grain protein content and flour consistency. This resulted in negative correlations between soil F: B ratio and grain baking quality, especially for samples taken early in the season. Contrastingly, our wheat field survey across Quebec revealed no correlation between naturally occurring F: B ratios and grain quality parameters. Overall, we were able to manipulate the soil microbial communities using various amendments, but this did not result in the hypothesized changes in the wheat grain baking quality. This could be due to 1) unwanted effects of the amendments on the plant or soil microbial communities, 2) mismatch between the time of application and wheat nutritional needs, 3) limiting amounts of organic N in the soil or competition from other soil organisms. Also, we looked at the F: B ratio based on DNA, which does not necessarily translate into organic matter degradation activities, which could explain the lack of a clear link between grain quality and soil F: B ratios.

Paper mill residue, spent brewery grain, sawdust and straw were selected to enhance the F: B ratio because they have a high C: N ratio, which is thought to prioritize fungal decomposition of the soil organic matter (de Vries *et al.*, 2006). Indeed, the C: N ratio of organic matter needs to be at least 20 for stimulating a significant change in the F: B ratio (Vinten *et al.*, 2002). Among our top amendments for increasing the F: B ratio, deinking sludge can have a C: N ratio as high as 112 (Fierro *et al.*, 1999). whereas spent brewery grain is mainly composed of fiber (cellulose and hemicellulose), protein and lignin, with a high water content (Lynch *et al.*, 2016). However, these organic matter amendments are not only a nutrient source but can also alter soil physical, microbial, and chemical properties, like water holding capacity, microbial activities and nutrient retention (Larney *et al.*, 2012). Importantly, if they could also modify the fungal and bacterial

community composition and diversity, which would have gone unnoticed using our approach, but could have large consequences on wheat growth and N assimilation. For instance, an increase in the F: B ratio caused by an increased abundance of beneficial or neutral fungi would not affect wheat the same way as if this increase was caused by pathogens or competitors. Interestingly, the field survey showed that bacterial abundance was negatively correlated to wheat grain baking quality, which suggests that modulating the F: B ratio through a decrease in bacterial abundance might be more desirable than increasing fungal abundance. Finally, the paper mill residue was the most significant input for increasing the F: B ratio in the field experiment, but it also resulted in a decreased wheat grain quality, alluding to a potential detrimental effect of this waste product on wheat growth and nutrition, either directly, or indirectly as detailed above.

The effect of the amendments varied through time, both for the pot and field experiment. Since we controlled very tightly the conditions for the pot experiment, it is most likely that these variations were due to the decomposition dynamic in soils. Indeed, time affects the composition of the soil organic matter itself because microorganisms first use the easiest compounds to decompose (Bossuyt *et al.*, 2001). After a certain time, easier compounds are decomposed, and microorganisms will need to use other compounds that require more energy or specialized enzymes to be digested. This decrease in the substrate quality or the complete degradation with time, causes a decrease in microbial abundance and a shift in community composition (Chapin *et al.*, 2002). Other studies amended their soils more than one time (Setälä *et al.*, 2004), but it is unclear how this would work under production conditions. For the field experiment, two other factors can influence the temporal patterns observed: plant development and weather. The N requirement of wheat for high-quality grain varies through its growth stages. So, if the modulation of the F: B ratio was not concomitant with the wheat N needs, or if no organic N is available to degrade at that moment, it is likely that no effect of the amendments on grain quality will be observed. In fact, we observed that F: B ratios of the bulk soil compartment at two and four weeks, which roughly corresponds to germination and emergence (Miller, 1992), were negatively correlated with the protein and gluten content. Although at those stages, wheat is not yet accumulating protein in its grain, some recent studies from our group have shown that microbial data measured shortly after seeding had a high predictive power for grain quality and yields measured at harvest (Asad *et al.*, 2021). Finally, in the field experiment, we observed, across all treatments, a large increase in the F: B ratio at the ten weeks of sampling, which roughly corresponds to the grain filling stage. This coincided with large rainfall events in the preceding weeks, which probably favored fungi, as they are generally more resistant to shifts in soil water availability (Wang *et al.*, 2022b). Indeed, previous studies found that precipitation increased the

fungal biomass, and consequently the F: B ratio (Bell *et al.*, 2014; Bi *et al.*, 2012; Nielsen *et al.*, 2015). In that case, the potential effect our amendments could have had at this critical growth stage was probably masked by this disproportionate increase in the F: B ratio across all treatments.

Our idea was that once fungi were favored over bacteria through our amendments, they would be the main degraders of the soil organic matter, which would result in an enhanced release of nitrogen for plant uptake. However, if soil organic matter was scarce, the N release from it would have been limited, and the amendments would not affect plant nutrition and grain quality. This might explain the differences between the three soils in the pot experiment, and the inconsistent results observed in the field survey. Under N-limiting conditions, competition with the soil microbiota could also have played an important role in the observed results. In line with that, in the field survey, we noted that bacterial abundance was negatively correlated with gluten and protein content of the grain. Higher bacterial abundance, with their high N needs, could result in a heightened competition for available N and consequently less N available for plant use (de Vries *et al.*, 2011). Also, the composition of the organic matter in the soil and the starting soil F: B ratios could have influenced the effect of our amendments. Indeed, the forest soil had a significantly higher F: B ratio in comparison with the two other types of soil, as forest soils naturally contain large quantities of fungi, most specifically ectomycorrhizal fungi and saprotrophic fungi due to the presence large amount of organic matter from the plant litter. This organic matter is composed of plant cells and biopolymers from plant cell walls, which are recalcitrant and need specific enzymes to be decomposed, such as cellulase, ligninase and cutinase (Sinsabaugh *et al.*, 2002) that are often of fungal origin.

Increasing the yield and nutritional quality of cereals is challenging, but we believe that this could be achieved soon by modifying the plant and soil microbiota. Here, using three independent lines of evidence, we showed that it was possible to modify the soil and rhizosphere F: B ratios in three different soil types. Although this did not result in the expected increase in wheat grain baking quality, our study revealed many interesting phenomena that will need to be investigated further, on our way to increase crop nitrogen use efficiency through a microbial approach.

7 DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION

L'hypothèse principale de cette recherche était que certains intrants organiques avec un ratio C: N élevé pourraient augmenter le ratio champignon: bactérie, ce qui pourrait augmenter la qualité des grains de blé grâce à une plus grande libération d'azote organique dans les sols. Afin de tester cette hypothèse, ce projet a été divisé en objectifs distincts, soit d'augmenter le ratio C: B à l'aide de différents ajouts de matière organique et d'augmenter l'absorption d'azote organique par les plantes de blé. Afin de répondre à ces objectifs, une étude de corrélation entre le ratio C: B et les différents indices de qualité de grains a été réalisée à l'aide d'échantillons provenant de 33 champs à travers le Québec. Aucune corrélation positive n'a été trouvée entre les ratios champignon : bactérie et les indices de qualité de grains. Cependant, une corrélation négativement significative a été déterminée entre le nombre de copies du gène ribosomique 16S bactérien et la quantité de gluten et de protéine dans les grains. Il est donc valable de penser que peut-être les bactéries utilisent l'azote organique présent dans le sol, ne permettant pas à la plante de l'assimiler et de l'utiliser pour sa propre biomasse et croissance. En parallèle, une expérience en pot a été effectuée afin de tester la capacité de différents intrants de matière organique à augmenter le ratio C: B. La boue de désencrage et la drêche de microbrasserie ont eu les plus grands impacts sur tous les types de sols testés et ont permis d'augmenter le ratio C: B. Finalement, à l'aide des résultats obtenus lors de l'expérience en pot, une expérience dans un champ expérimental a été effectuée, où les deux amendements de matière organique trouvés lors de l'expérience en pot, soit la drêche de microbrasserie et la boue de désencrage, et un fertilisant organique ont été ajoutés afin d'augmenter la qualité boulangère du blé. Comme lors de l'expérience en pot, les intrants de drêche et de boue de désencrage ont significativement augmenté le ratio C: B dans le sol éloigné et la rhizosphère. Cependant, cette augmentation n'a pas permis d'augmenter la qualité des grains de blé et l'ajout de la boue de désencrage a eu l'effet inverse de ce qui était attendu, soit une diminution de la qualité des grains. En outre, ces trois expériences ont permis d'élucider plusieurs facteurs importants à prendre en compte lorsqu'il est question de moduler le microbiome des sols à l'aide d'intrants de matière organique.

7.1 Facteurs importants lors de l'augmentation du ratio C: B

Les matières organiques ainsi que leur composition est un facteur influençant grandement le ratio C: B. Due à leur demande élémentaire, les bactéries et les champignons ne dégraderont pas les mêmes substrats (Malik *et al.*, 2016; Strickland *et al.*, 2010). Donc, lorsqu'il y a un ajout d'une matière organique spécifique, la structure de la communauté microbienne peut grandement varier selon la matière organique en question. En effet, les communautés microbiennes des sols utilisent plusieurs mécanismes afin de modifier leur composition (Mooshammer *et al.*, 2014). Dans le cas de cette recherche, la modulation des microorganismes dominants est le mécanisme principalement étudié. Lors de l'expérience au champ, l'ajout de matière organique contenant beaucoup de carbone, tel que la boue de désencrage (résidu de pâte et papier) a permis aux champignons de proliférer et de dominer les sols, puisque ceux-ci possèdent plusieurs enzymes spécifiques permettant de dégrader les substrats carbonés (Romaní *et al.*, 2006). Cependant, lorsqu'on ajoute la plante dans l'équation sol – microorganismes, plusieurs nouveaux facteurs entrent en ligne de compte.

Les plantes sont des organismes possédant plusieurs compartiments propices à la croissance microbienne. En plus de posséder ces microniches écologiques, elles vont s'associer avec plusieurs microorganismes du sol afin d'obtenir des nutriments et bénéfiques pour leur croissance et leur survie (Berendsen *et al.*, 2012). Elles vont donc sécréter différents composés chimiques afin de construire des relations symbiotiques avec plusieurs microorganismes (Kavamura *et al.*, 2021). Le microbiome de la rhizosphère est celui qui permet principalement à la plante d'aller chercher les nutriments essentiels à sa croissance, tel que l'azote (Berendsen *et al.*, 2012). Il est donc primordial, lors d'un ajout de matière organique à décomposer, de prendre en compte les interactions entre la plante et son microbiome, puisque ceux-ci vont jouer un rôle très important dans la répartition des ressources azotées. En modifiant le microbiome natif des plantes à l'aide d'intrant de matière organique, il serait potentiellement possible de modifier l'absorption de l'azote organique par la plante, lors de l'ajout de fertilisant. Cependant, l'ajout de matière organique peut aussi causer un changement de diversité dans la communauté microbienne, pouvant résulter en une augmentation des pathogènes et microorganismes compétiteurs, ce qui est potentiellement néfaste pour l'acquisition azotée des plantes.

En plus des compartiments et du microbiome des plantes, les différents stades de croissance des plantes jouent un rôle crucial dans l'acquisition d'azote. L'étude de corrélation et l'expérience au champ ont permis de comprendre que sans prendre en considération les besoins spécifiques à un stade de croissance précis, le ratio C : B n'a aucun effet sur les différents indices de qualité

des grains de blé. De plus, si les microorganismes n'ont pas accès à une source de nutriment au moment où la plante en a le plus besoin, alors l'augmentation du ratio C : B ne permet pas d'augmenter l'acquisition d'azote par la plante. Il est donc primordial de définir les stades de croissance cruciaux, où la plante nécessite un grand apport en nutriment afin de pouvoir ajouter des fertilisants organiques au bon moment.

7.2 Limites des travaux et pistes de solutions

Les travaux réalisés dans le cadre de ce projet de recherche ont permis de répondre partiellement aux objectifs, qui était d'augmenter le ratio C : B à l'aide d'intrant de matière organique et d'augmenter l'absorption d'azote organique par les plants de blé. En effet, l'augmentation du ratio C : B a été réussie lors de l'expérience en pots et lors de l'expérience au champ, à l'aide de la drêche de microbrasserie et de la boue de désencrage. Le deuxième objectif n'a malheureusement pas été atteint, puisque les corrélations entre les indices de qualité de grain de blé et le ratio C : B ne sont pas significatives et que la boue de désencrage a réduit la qualité boulangère des grains. Cependant, ce manque de corrélation n'est pas synonyme d'aucun lien causal entre le ratio C : B et l'absorption d'azote organique par le blé et il existe plusieurs solutions afin de déterminer si le ratio C : B pourrait potentiellement avoir un effet positif sur l'absorption de l'azote par le blé.

7.3 Pistes de solutions au champ expérimental

L'ajout de fertilisant organique, c'est-à-dire le compost de ville, pourrait être optimisé. Dans le cas de l'expérience au champ, le compost a été ajouté seulement lorsque les graines ont été semées. Il serait potentiellement intéressant de garder le même protocole expérimental, avec les mêmes intrants de matière organique (drêche de microbrasserie et boue de désencrage) pour augmenter le ratio C : B, mais d'effectuer l'ajout de compost au stade de germination et au stade de tallage des plantes de blé. Ces deux stades de croissance sont souvent ciblés pour l'application de fertilisant en agriculture, ce qui rendrait l'expérience reproductible en industrie (Hawkesford, 2014; Miller, 1992). À plus long terme, le ratio C : B pourrait être modifié de façon permanente en utilisant des rotations de culture et des ajouts d'intrant de matière organique annuelle. Il serait donc intéressant de planifier une expérience échelonnée sur plusieurs années, encore une fois au champ.

7.4 Autres expériences pertinentes

En plus de mesurer l'abondance des deux groupes de microorganismes décomposeurs, il serait intéressant d'observer la diversité et la composition du microbiome à travers le temps grâce à la métagénomique. Le séquençage et caractérisation du microbiome des sols et de la rhizosphère pourrait peut-être nous apporter quelques réponses en lien avec l'effet négatif de la boue de désencrage sur la qualité des grains de blé. Finalement, afin de définir un lien de causalité directe entre le ratio C : B et l'absorption d'azote, une expérience en pot pourrait être réalisée avec du blé et un fertilisant organique marqué à l'azote N_{15} . La terre utilisée pour la croissance des plantes serait préalablement traitée avec les intrants de matière organique (drêche de microbrasserie et boue de désencrage) afin d'avoir un ratio C : B augmenté. Après environ deux mois de croissance, la rhizosphère et le sol éloigné seront échantillonnés et l'ADN total extrait. L'abondance des microorganismes serait mesurée par PCR en temps réel et le ratio C : B serait mesuré, comme lors des expériences réalisées dans le cadre de ce mémoire. De plus, la quantité totale d'azote marquée incorporée par les microorganismes sera mesurée en prenant des échantillons de sol et en les analysant par spectrométrie à l'aide d'un analyseur d'élément. La même méthode serait utilisée afin de mesurer la quantité totale d'azote marquée dans les tissus foliaires des plants de blé. En bref, cette expérience permettrait de déterminer un lien direct entre le ratio C : B et l'absorption d'azote organique par la plante.

7.5 Méthodologie pour la mesure du ratio C : B

Le ratio C : B est utilisé depuis plusieurs années afin de simplifier et comprendre les structures des communautés microbiennes du sol (de Vries *et al.*, 2006). Ce ratio peut même être utilisé comme un prédicteur de plusieurs caractéristiques des sols, tel que les services écosystémiques, la fertilité des sols ainsi que la production primaire des écosystèmes terrestres (Wang *et al.*, 2022a). Le ratio C : B est donc un bon outil pour distinguer les différentes variables importantes dictant les différents processus des sols et de l'interaction sol – microorganismes – plante. En revanche, il faut tenir compte des limites des différentes techniques utilisées afin de déterminer ces ratios, car elles influencent parfois les résultats et les interprétations. Les principales techniques permettant de mesurer le ratio C : B sont 1- La cytométrie en flux, 2- La détection de l'adénosine triphosphate par fluorescence, 3- L'extraction et fumigation du carbone microbien (MBC), 4- La mesure de la respiration induite par le substrat (SIR), 5- l'analyse des acides gras phospholipidique (PLFA) et finalement 5- La PCR quantitative (Wang *et al.*, 2022a). Actuellement, la méthode la plus utilisée est la PCR quantitative, puisque c'est l'une des méthodes les plus

simples et les plus reproductibles. Cependant, elle n'est pas sans limitation, puisque c'est une méthode très sensible aux différents inhibiteurs et elle dépend aussi de la courbe standard, qui est générée à partir de culture pure de bactéries et champignons. C'est donc une méthode qui peut être ardue lorsqu'on l'utilise avec des échantillons à faible concentration et surtout possédant des impuretés, tel que les échantillons provenant des sols. Wang et al. 2022, ont récemment étudié les différences entre la quantification des bactéries et des champignons à l'aide de la qPCR et de la droplet digital PCR (ddPCR) (Wang *et al.*, 2022a). Ce groupe a permis de déterminer que la ddPCR est un meilleur outil que la qPCR afin de mesurer le ratio C : B, puisqu'elle est beaucoup plus précise et insensible aux différents inhibiteurs de la réaction PCR. De plus, les coûts seraient réduits et le temps requis pour effectuer le même nombre d'échantillons, puisqu'il est possible de quantifier plusieurs gènes dans une même réaction. Cette technique pourrait donc potentiellement être une solution aux différents problèmes rencontrés lors de l'optimisation de la technique de qPCR. De plus, la ddPCR pourrait permettre une quantification plus efficace pour les échantillons de sol, ce qui peut parfois être laborieux.

De plus, l'utilisation de l'ADN pour mesurer le ratio C: B et d'observer l'impact de ce ratio sur la qualité des grains n'est peut-être pas l'option la plus efficace afin de déterminer le lien entre la décomposition et l'utilisation d'azote par la plante. En effet, la quantité d'ADN dans les sols n'est pas directement liée à l'activité métabolique des microorganismes décomposeurs. Ainsi, la transcriptomique pourrait être une alternative permettant de quantifier la transcription de gènes spécifiquement importants lors de la décomposition de la matière organique et de l'utilisation d'azote des décomposeurs.

7.6 Méthode d'analyse des résultats

Un changement de test statistique pourrait potentiellement simplifier l'interprétation des résultats de l'expérience en pot et de l'expérience au champ expérimental. Un modèle linéaire généralisé mixte (GLMM) pourrait être utilisé comme test statistique, puisque les expériences mentionnées ci-dessus comportent un effet dit fixe, c'est-à-dire l'effet des différents amendements, des sols dans l'expérience en pot ainsi que l'effet du compost dans l'expérience au champ ainsi qu'un effet aléatoire, l'effet des blocs dans ce cas-ci (Stroup, 2015). Ce test statistique permettra de contrôler l'effet de bloc afin que celui-ci ne biaise pas les résultats. De plus, un GLMM permettrait d'utiliser les différents temps d'échantillonnage et de déterminer un temps particulier ou l'effet des variables explicatives sur la variable réponse est plus prononcé (Stroup, 2015).

7.7 Perspectives

Dans un monde où les changements climatiques sont omniprésents, il est primordial de penser et d'agir face aux conséquences de nos pratiques agricoles sur les différents écosystèmes et sur le rendement des cultures. Le système agricole actuel nécessite plusieurs changements concernant la façon dont la fertilisation azotée est effectuée. L'utilisation de fertilisants organiques azotés est une potentielle solution afin de réduire l'impact néfaste de l'agriculture. De plus, l'augmentation des rendements et de la valeur nutritionnelle des grandes cultures de blé grâce au ratio champignon : bactérie pourrait potentiellement être une solution à l'un des plus grands problèmes que fait face l'humanité ; la faim dans le monde. Ce projet de recherche a donc évalué l'option de moduler le microbiome du sol à l'aide de matière organique afin d'augmenter la qualité boulangère du blé. Il reste encore énormément de travail et découvertes à faire sur le sujet, mais ce projet de recherche a permis de caractériser plusieurs facteurs non négligeables lors de la modulation du microbiome. De plus, ce projet a permis de trouver de nouvelles utilités à plusieurs déchets de matières organiques de certaines industries répandues au Québec, tel que l'industrie brassicole et l'industrie papetière. En outre, ce projet promeut l'économie circulaire et locale, permettant par le fait même de minimiser les retombées diverses de l'agriculture, mais aussi d'autres industries dévastatrices pour l'environnement.

8 BIBLIOGRAPHIE

- Aber JD, Melillo JM (1982) Nitrogen immobilization in decaying hardwood leaf litter as a function of initial nitrogen and lignin content. *Canadian Journal of Botany* 60(11):2263-2269.
- Agoussar A, Azarbad H, Tremblay J, Yergeau É (2021a) The resistance of the wheat microbial community to water stress is more influenced by plant compartment than reduced water availability. *FEMS Microbiol Ecol* 97(12).
- Agoussar A, Yergeau E (2021b) Engineering the plant microbiota in the context of the theory of ecological communities. *Curr Opin Biotechnol* 70:220-225.
- Amadou A, Song A, Tang Z-X, Li Y, Wang E-Z, Lu Y-Q, Liu X-D, Yi K, Zhang B, Fan F (2020) The effects of organic and mineral fertilization on soil enzyme activities and bacterial community in the below-and above-ground parts of wheat. *Agronomy* 10(10):1452.
- Ansari MS, Moraiet MA, Ahmad S (2014) Insecticides: impact on the environment and human health. *Environmental deterioration and human health*, Springer. p 99-123.
- Archer D, Wood D (1995) Fungal exoenzymes. *The growing fungus*, Springer. p 137-162.
- Arif I, Batool M, Schenk PM (2020) Plant microbiome engineering: expected benefits for improved crop growth and resilience. *Trends in Biotechnology* 38(12):1385-1396.
- Asad NI, Tremblay J, Dozois J, Mukula E, L'Espérance E, Constant P, Yergeau E (2021) Predictive microbial-based modelling of wheat yields and grain baking quality across a 500 km transect in Québec. *FEMS Microbiol Ecol* 97(12).
- Assandri D, Pampuro N, Zara G, Cavallo E, Budroni M (2020) Suitability of composting process for the disposal and valorization of brewer's spent grain. *Agriculture* 11(1):2.
- Azarbad H, Tremblay J, Giard-Laliberte C, Bainard LD, Yergeau E (2020) Four decades of soil water stress history together with host genotype constrain the response of the wheat microbiome to soil moisture. *FEMS Microbiol Ecol* 96(7):fiae098.
- Bell CW, Tissue DT, Loik ME, Wallenstein MD, Acosta-Martinez V, Erickson RA, Zak JC (2014) Soil microbial and nutrient responses to 7 years of seasonally altered precipitation in a Chihuahuan Desert grassland. *Global Change Biology* 20(5):1657-1673.
- Benbi D, Richter J, x000F, rg (2002) A critical review of some approaches to modelling nitrogen mineralization. *Biology and Fertility of Soils* 35(3):168-183.
- Berendsen RL, Pieterse CMJ, Bakker PAHM (2012) The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science* 17(8):478-486.
- Berg B, Laskowski R (2005) Decomposers: Soil Microorganisms and Animals. *Litter Decomposition: A Guide to Carbon and Nutrient Turnover*, (Advances in Ecological Research: 10.1016/s0065-2504(05)38003-2. p 73-100.
- Berg G, Rybakova D, Fischer D, Cernava T, Vergès M-CC, Charles T, Chen X, Cocolin L, Eversole K, Corral GH, Kazou M, Kinkel L, Lange L, Lima N, Loy A, Macklin JA, Maguin E, Mauchline T, McClure R, Mitter B, Ryan M, Sarand I, Smidt H, Schelkle B, Roume H, Kiran GS, Selvin J, Souza RSCd, van Overbeek L, Singh BK, Wagner M, Walsh A, Sessitsch A, Schloter M (2020) Microbiome definition revisited: old concepts and new challenges. *Microbiome* 8(1):103.
- Bernhard A (2010) The nitrogen cycle : processes, players and human impact. *Nature Education Knowledge* 2(12).
- Bi J, Zhang N, Liang Y, Yang H, Ma K (2012) Interactive effects of water and nitrogen addition on soil microbial communities in a semiarid steppe. *Journal of Plant Ecology* 5(3):320-329.

- Blasius D, Feil W, Kottke I, Oberwinkler F (1986) Hartig net structure and formation in fully ensheathed ectomycorrhizas. *Nordic Journal of Botany* 6(6):837-842.
- Boddy L (2016) Fungi, Ecosystems, and Global Change. *The Fungi*, 10.1016/b978-0-12-382034-1.00011-6. p 361-400.
- Bonfante P, Anca IA (2009) Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: a network of interactions. *Annu Rev Microbiol* 63:363-383.
- Bossuyt H, Deneff K, Six J, Frey SD, Merckx R, Paustian K (2001) Influence of microbial populations and residue quality on aggregate stability. *Applied Soil Ecology* 16(3):195-208.
- Bothe H, Ferguson S, Newton WE (2006) *Biology of the nitrogen cycle*. Elsevier,
- Branlard G, Dardevet M, Saccomano R, Lagoutte F, Gourdon J (2001) Genetic diversity of wheat storage proteins and bread wheat quality. *Euphytica* 119(1):59-67.
- Bruce K, Hiorns W, Hobman J, Osborn A, Strike P, Ritchie D (1992) Amplification of DNA from native populations of soil bacteria by using the polymerase chain reaction. *Appl Environ Microbiol* 58(10):3413-3416.
- Brust GE (2019) Management Strategies for Organic Vegetable Fertility. *Safety and Practice for Organic Food*, 10.1016/b978-0-12-812060-6.00009-x. p 193-212.
- Camberato BG, Angers, M, Chantigny H, Pan WL (2006) Pulp and paper mill by-products as soil amendments and plant nutrient sources. *Canadian Journal of Soil Science* (86):641-653.
- Chapin FS, Mooney (2002) *Principles of terrestrial ecosystem ecology*.
- Clocchiatti A, Hannula SE, Hundscheid MPJ, Klein Gunnewiek PJA, de Boer W (2021) Stimulated saprotrophic fungi in arable soil extend their activity to the rhizosphere and root microbiomes of crop seedlings. *Environ Microbiol* 23(10):6056-6073.
- Coskun D, Britto DT, Shi W, Kronzucker HJ (2017) Nitrogen transformations in modern agriculture and the role of biological nitrification inhibition. *Nat Plants* 3:17074.
- Cotton TEA, Pétriacoq P, Cameron DD, Meselmani MA, Schwarzenbacher R, Rolfe SA, Ton J (2019) Metabolic regulation of the maize rhizobiome by benzoxazinoids. *The ISME Journal* 13(7):1647-1658.
- Crutzen PJ (2006) The « Anthropocene ». *Earth system science in the anthropocene* :13-18.
- de Vries FT, Hoffland E, van Eekeren N, Brussaard L, Bloem J (2006) Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen management. *Soil Biology and Biochemistry* 38(8):2092-2103.
- de Vries FT, van Groenigen JW, Hoffland E, Bloem J (2011) Nitrogen losses from two grassland soils with different fungal biomass. *Soil Biology and Biochemistry* 43(5):997-1005.
- Dean RA, Timberlake WE (1989) Production of cell wall-degrading enzymes by *Aspergillus nidulans*: a model system for fungal pathogenesis of plants. *The Plant Cell* 1(3):265-273.
- DeBusk RM, Ogilvie S (1984) Participation of an extracellular deaminase in amino acid utilization by *Neurospora crassa*. *Journal of Bacteriology* 159(2):583-589.
- Donlan RM (2002) Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging infectious diseases* 8(9):881-890.
- Dvořák J (2001) *Triticum* species (wheat).
- Enggrob KL, Jakobsen CM, Pedersen IF, Rasmussen J (2019) Newly depolymerized large organic N contributes directly to amino acid uptake in young maize plants. *New Phytologist* 224(2):689-699.
- Erisman JW, Seitzinger S, Bleeker A, Butterbach-Bahl K (2011) Reactive nitrogen in the environment and its effect on climate change. *Environmental Sustainability* (3):281- 290.
- Fabian J, Zlatanovic S, Mutz M, Premke K (2017) Fungal-bacterial dynamics and their contribution to terrigenous carbon turnover in relation to organic matter quality. *ISME J* 11(2):415-425.

- Farzadfar S, Knight JD, Congreves KA (2021) Soil organic nitrogen: an overlooked but potentially significant contribution to crop nutrition. *Plant Soil* 462(1-2):7-23.
- Ferreira MS, Martre P, Mangavel C, Girousse C, Rosa NN, Samson M-F, Morel M-H (2012) Physicochemical control of durum wheat grain filling and glutenin polymer assembly under different temperature regimes. *Journal of cereal science* 56(1):58-66.
- Fierer N, Jackson JA, Vilgalys R, Jackson RB (2005) Assessment of soil microbial community structure by use of taxon-specific quantitative PCR assays. *Applied and environmental microbiology* 71(7):4117-4120.
- Fierro A, Angers DA, Beauchamp CJ (1999) Restoration of ecosystem function in an abandoned sandpit: plant and soil responses to paper de-inking sludge. *Journal of Applied Ecology* 36(2):244-253.
- Fiore M, Gallo C, Tsoukatos E, La Sala P (2017) Predicting consumer healthy choices regarding type 1 wheat flour. *British Food Journal*.
- Fowler D, Coyle M, Skiba U, Sutton MA, Cape JN, Reis S, Sheppard LJ, Jenkins A, Grizzetti B, Galloway JN, Vitousek P, Leach A, Bouwman AF, Butterbach-Bahl K, Dentener F, Stevenson D, Amann M, Voss M (2013) The global nitrogen cycle in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 368(1621):20130164.
- Franklin Elmer A (1973) *Soil organic matter and its role in crop production*. Elsevier,
- Freund W, Kim M (2006) 12 Determining the Baking Quality of Wheat and Rye Flour.
- Frostegard A. EB (1996) The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biol Fertil soils* 22:59-65.
- Gadd GM (2013) Fungi and Their Role in the Biosphere. *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences*, 10.1016/b978-0-12-409548-9.00933-7.
- Geisseler D, Horwath WR, Joergensen RG, Ludwig B (2010) Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms – A review. *Soil Biology and Biochemistry* 42(12):2058-2067.
- González PJ, Correia C, Moura I, Brondino CD, Moura JJG (2006) Bacterial nitrate reductases: Molecular and biological aspects of nitrate reduction. *Journal of Inorganic Biochemistry* 100(5):1015-1023.
- Gonzalez-Candelas L, Kolattukudy P (1992) Isolation and analysis of a novel inducible pectate lyase gene from the phytopathogenic fungus *Fusarium solani* f. sp. *pisi* (*Nectria haematococca*, mating population VI). *Journal of Bacteriology* 174(20):6343-6349.
- Goodfellow M, Williams ST (1983) ECOLOGY OF ACTINOMYCETES. *Annual Review of Microbiology* 37(1):189-216.
- Gysler C, Harmsen J, Kester H, Visser J, Heim J (1990) Isolation and structure of the pectin lyase D-encoding gene from *Aspergillus niger*. *Gene* 89(1):101-108.
- H. Bossuyt KD, J. Six, S.D. Frey, R. Merckx, K. Paustian (2001) Influence of microbial populations and residue quality on aggregate stability. *Applied Soil Ecology* (16):195-208.
- Hagemann N, Harter J, Behrens S (2016) Elucidating the Impacts of Biochar Applications on Nitrogen Cycling Microbial Communities. *Biochar Application*, 10.1016/b978-0-12-803433-0.00007-2. p 163-198.
- Hawkesford MJ (2014) Reducing the reliance on nitrogen fertilizer for wheat production. *Journal of cereal science* 59(3):276-283.
- Haynes R (1986) The decomposition process: Mineralization, immobilization, humus formation. *Mineral nitrogen in the plant-soil systems* :52-126.
- Helling RB (1994) Why does *Escherichia coli* have two primary pathways for synthesis of glutamate? *Journal of Bacteriology* 176(15):4664-4668.
- Hoorman JJ (2011) The role of soil bacteria. *Ohio State University Extension, Columbus* :1-4.

- Horiuchi H, Yanai K, Takagi M, Yano K, Wakabayashi E, Sanda A, Mine S, Ohgi K, Irie M (1988) Primary structure of a base non-specific ribonuclease from *Rhizopus niveus*. *The Journal of Biochemistry* 103(3):408-418.
- Howard JB, Rees DC (1996) Structural basis of biological nitrogen fixation. *Chemical reviews* 96(7):2965-2982.
- Huang GF, Wong J, Wu Q, Nagar B (2004) Effect of C/N on composting of pig manure with sawdust. *Waste management* 24(8):805-813.
- Jackson LE, Burger M, Cavagnaro TR (2008) Roots, nitrogen transformations, and ecosystem services. *Annual Review of Plant Biology* 59(1):341-363.
- Jan MT, Roberts P, Tonheim SK, Jones DL (2009) Protein breakdown represents a major bottleneck in nitrogen cycling in grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 41(11):2272-2282.
- Jansson S, Persson J (1982) Mineralization and immobilization of soil nitrogen. *Nitrogen in agricultural soils* 22:229-252.
- Jones DL, Healey JR, Willett VB, Farrar JF, Hodge A (2005) Dissolved organic nitrogen uptake by plants—an important N uptake pathway? *Soil Biology and Biochemistry* 37(3):413-423.
- Kavamura VN, Mendes R, Bargaz A, Mauchline TH (2021) Defining the wheat microbiome: Towards microbiome-facilitated crop production. *Computational and structural biotechnology journal* 19:1200-1213.
- Kleiner D (1981) The transport of NH₃ and HN₄⁺ across biological membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Bioenergetics* 639(1):41-52.
- Krishna MP, Mohan M (2017) Litter decomposition in forest ecosystems: a review. *Energy, Ecology and Environment* 2(4):236-249.
- Kucek LK, Veenstra LD, Amnuaycheewa P, Sorrells ME (2015) A grounded guide to gluten: how modern genotypes and processing impact wheat sensitivity. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 14(3):285-302.
- Kusters-van Someren M, Flipphi M, de Graaff L, van den Broeck H, Kester H, Hinnen A, Visser J (1992) Characterization of the *Aspergillus niger* pelB gene: structure and regulation of expression. *Molecular and General Genetics MGG* 234(1):113-120.
- Ladha JK, Tirol-Padre A, Reddy CK, Cassman KG, Verma S, Powelson DS, van Kessel C, de B. Richter D, Chakraborty D, Pathak H (2016) Global nitrogen budgets in cereals: A 50-year assessment for maize, rice and wheat production systems. *Scientific Reports* 6(1):19355.
- Larney FJ, Angers DA (2012) The role of organic amendments in soil reclamation: A review. *Canadian Journal of Soil Science* 92(1):19-38.
- Larney FJ, Blackshaw RE (2003) Weed seed viability in composted beef cattle feedlot manure. *Journal of Environmental Quality* 32(3):1105-1113.
- Latz MA, Kernn MH, Sørensen H, Collinge DB, Jensen B, Brown JK, Madsen AM, Jørgensen HJL (2021) Succession of the fungal endophytic microbiome of wheat is dependent on tissue-specific interactions between host genotype and environment. *Science of The Total Environment* 759:143804.
- Lederberg J, McCray AT (2001) Ome SweetOmics--A genealogical treasury of words. *The scientist* 15(7):8-8.
- Lewis SL, Maslin MA (2015) Defining the anthropocene. *Nature* 519(7542):171-180.
- Li S-x, Wang Z-h, Miao Y-f, Li S-q (2014) Soil Organic Nitrogen and Its Contribution to Crop Production. *Journal of Integrative Agriculture* 13(10):2061-2080.
- Lipson D, Näsholm T (2001) The unexpected versatility of plants: organic nitrogen use and availability in terrestrial ecosystems. *Oecologia* 128(3):305-316.

- Loveland P, Webb J (2003) Is there a critical level of organic matter in the agricultural soils of temperate regions: a review. *Soil and Tillage Research* 70(1):1-18.
- Lynch KM, Steffen EJ, Arendt EK (2016) Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. *Journal of the Institute of Brewing* 122(4):553-568.
- Mahapatra S, Rayanoothala P, Solanki MK, Das S (2020) Wheat microbiome: present status and future perspective. *Phytobiomes: Current Insights and Future Vistas*, Springer. p 191-223.
- Malik AA, Chowdhury S, Schlager V, Oliver A, Puissant J, Vazquez PG, Jehmlich N, von Bergen M, Griffiths RI, Gleixner G (2016) Soil Fungal:Bacterial Ratios Are Linked to Altered Carbon Cycling. *Front Microbiol* 7:1247.
- Martin KJ, Rygielwicz PT (2005) Fungal-specific PCR primers developed for analysis of the ITS region of environmental DNA extracts. *BMC microbiology* 5(1):1-11.
- Martínez-Viveros O, Jorquera M, Crowley D, Gajardo G, Mora M (2010) Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Journal of soil science and plant nutrition* 10(3):293-319.
- McNeill A, Murray U (2007) The nitrogen cycle in terrestrial ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry* 10.
- Miller TD (1992) Growth stages of wheat. *Better crops with plant food. Potash & Phosphate Institute* 76:12.
- Mooshammer M, Wanek W, Zechmeister-Boltenstern S, Richter A (2014) Stoichiometric imbalances between terrestrial decomposer communities and their resources: mechanisms and implications of microbial adaptations to their resources. *Front Microbiol* 5:22.
- Moreau D, Bardgett RD, Finlay RD, Jones DL, Philippot L, Power S (2019) A plant perspective on nitrogen cycling in the rhizosphere. *Functional Ecology* 33(4):540-552.
- Moussian B (2019) Chitin: Structure, Chemistry and Biology. *Adv Exp Med Biol* 1142:5-18.
- Myrold DD (2021) 15 - Transformations of nitrogen. *Principles and Applications of Soil Microbiology (Third Edition)*, Gentry TJ, Fuhrmann JJ, Zuberer DA (Édit.) Elsevier, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820202-9.00015-0>. p 385-421.
- Nasholm T, Kielland K, Ganeteg U (2009) Uptake of organic nitrogen by plants. *New Phytol* 182(1):31-48.
- Nielsen UN, Ball BA (2015) Impacts of altered precipitation regimes on soil communities and biogeochemistry in arid and semi-arid ecosystems. *Global Change Biology* 21(4):1407-1421.
- Norskov J, Chen J, Bullock M, Chirik P, Chorkendorff I (2016) Sustainable ammonia synthesis. *DOE Roundtable Report* :2-2016.
- Nuttall JG, O'Leary GJ, Panozzo JF, Walker CK, Barlow KM, Fitzgerald GJ (2017) Models of grain quality in wheat—A review. *Field Crops Research* 202:136-145.
- Op den Camp HJM, Jetten MSM, Strous M (2007) Chapter 16 - Anammox. *Biology of the Nitrogen Cycle*, Bothe H, Ferguson SJ, Newton WE (Édit.) Elsevier, Amsterdam <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52857-5.50017-5>. p 245-262.
- Ostrowska A, Porębska G (2015) Assessment of the C/N ratio as an indicator of the decomposability of organic matter in forest soils. *Ecological Indicators* 49:104-109.
- Pascual J, García C, Hernandez T (1999) Lasting microbiological and biochemical effects of the addition of municipal solid waste to an arid soil. *Biology and Fertility of Soils* 30(1):1-6.
- Popper L, Schäfer W, Freund W (2006) *Future of flour: A compendium of flour improvement*. AgriMedia, Quideau S, Simpson M, Gillespie A (2021) Soil Organic Matter. *Digging into Canadian Soils*.
- Raeymaekers L (2000) Basic principles of quantitative PCR. *Molecular biotechnology* 15(2):115-122.

- Rascovan N, Carbonetto B, Perrig D, Díaz M, Canciani W, Abalo M, Alloati J, González-Anta G, Vazquez MP (2016) Integrated analysis of root microbiomes of soybean and wheat from agricultural fields. *Scientific reports* 6(1):1-12.
- Rhijn Pv, Vanderleyden J (1995) The Rhizobium-plant symbiosis. *Microbiological Reviews* 59(1):124-142.
- Ritch Jr TG, Nipper VJ, Akileswaran L, Smith AJ, Pribnow DG, Gold MH (1991) Lignin peroxidase from the basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium* is synthesized as a preproenzyme. *Gene* 107(1):119-126.
- Rivera MC, Izard J (2015) Chapter 10 - Promises and Prospects of Microbiome Studies. *Metagenomics for Microbiology*, Izard J, Rivera MC (Édit.) Academic Press, Oxford <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-410472-3.00010-5>. p 145-159.
- Robertson GP, Groffman PM (2015) Nitrogen Transformations. *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*, 10.1016/b978-0-12-415955-6.00014-1. p 421-446.
- Robertson GP, Paul EA (2000) Decomposition and Soil Organic Matter Dynamics. *Methods in Ecosystem science*, Sala OE, Jackson RB, Mooney HA, Howarth RW (Édit.) Springer New York, New York, NY 10.1007/978-1-4612-1224-9_8. p 104-116.
- Robertson GP, Vitousek PM (2009) Nitrogen in Agriculture: Balancing the Cost of an Essential Resource. *Annual Review of Environment and Resources* 34(1):97-125.
- Romaní AM, Fischer H, Mille-Lindblom C, Tranvik LJ (2006) Interactions of bacteria and fungi on decomposing litter: differentiation extracellular enzyme activities. *Ecology* 87(10):2559-2569.
- Rossmann M, Perez-Jaramillo JE, Kavamura VN, Chiaramonte JB, Dumack K, Fiore-Donno AM, Mendes LW, Ferreira MM, Bonkowski M, Raaijmakers JM (2020) Multitrophic interactions in the rhizosphere microbiome of wheat: from bacteria and fungi to protists. *FEMS Microbiol Ecol* 96(4):fiae032.
- Rousk J, Baath E (2007) Fungal and bacterial growth in soil with plant materials of different C/N ratios. *FEMS Microbiol Ecol* 62(3):258-267.
- Sankar Ganesh K, Sundaramoorthy P, Nagarajan M, Lawrence Xavier R (2017) Role of organic amendments in sustainable agriculture. *Sustainable agriculture towards food security*, Springer. p 111-124.
- Schimel JP, Bennett J (2004) Nitrogen mineralization: challenges of a changing paradigm. *Ecology* 85(3):591-602.
- Schlaeppli K, Bulgarelli D (2015) The plant microbiome at work. *Molecular Plant-microbe interactions* 28(3):212-217.
- Schlaeppli K, Ronchi F, Leib SL, Erb M, Ramette A (2020) Evaluation of primer pairs for microbiome profiling from soils to humans within the One Health framework. *Molecular ecology resources* 20(6):1558-1571.
- Schmidt S, Näsholm T, Rentsch D (2014) Organic nitrogen. *New Phytologist* 203(1):29-31.
- Schumann P (2011) 5 - Peptidoglycan Structure. *Methods in Microbiology*, Rainey F, Oren A (Édit.) Academic Press, Vol 38. p 101-129.
- Selosse M-A (2016) l'holobionte.
- Setälä H, McLean MA (2004) Decomposition rate of organic substrates in relation to the species diversity of soil saprophytic fungi. *Oecologia* 139(1):98-107.
- Shewry P (2019) What is gluten—Why is it special? *Frontiers in Nutrition* :101.
- Shewry PR (2009) Wheat. *Journal of experimental botany* 60(6):1537-1553.
- Silver WL, Herman DJ, Firestone MK (2001) DISSIMILATORY NITRATE REDUCTION TO AMMONIUM IN UPLAND TROPICAL FOREST SOILS. *Ecology* 82(9):2410-2416.

- Simonin M, Dasilva C, Terzi V, Ngonkeu EL, Diouf D, Kane A, Béna G, Moulin L (2020) Influence of plant genotype and soil on the wheat rhizosphere microbiome: evidences for a core microbiome across eight African and European soils. *FEMS Microbiol Ecol* 96(6):fiaa067.
- Singh M, Singh D, Gupta A, Pandey KD, Singh PK, Kumar A (2019) Chapter Three - Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Application in Biofertilizers and Biocontrol of Phytopathogens. *PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture*, Singh AK, Kumar A, Singh PK (Édit.) Woodhead Publishing, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815879-1.00003-3>. p 41-66.
- Sinsabaugh R, Carreiro M, Alvarez S (2002) Enzyme and microbial dynamics of litter decomposition. *Enzymes in the environment: activity, ecology, and applications* :249-265.
- Six J, Frey SD, Thiet RK, Batten KM (2006) Bacterial and Fungal Contributions to Carbon Sequestration in Agroecosystems. *Soil Science Society of America Journal* 70(2):555-569.
- Smil V (2004) *Enriching the earth: Fritz Haber, Carl Bosch, and the transformation of world food production*. MIT press,
- Soliday C, Flurkey W, Okita T, Kolattukudy P (1984) Cloning and structure determination of cDNA for cutinase, an enzyme involved in fungal penetration of plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 81(13):3939-3943.
- Šramková Z, Gregová E, Šturdík E (2009) Chemical composition and nutritional quality of wheat grain. *Acta Chimica Slovaca* 2(1):115-138.
- Stein LY, Klotz MG (2016) The nitrogen cycle. *Curr Biol* 26(3):R94-98.
- Stewart B, Robinson C, Parker DB (2000) Examples and case studies of beneficial reuse of beef cattle by-products. *Land Application of Agricultural, Industrial, and Municipal By-Products* 6:387-407.
- Stone JK, Polishook JD, White JF (2004) Endophytic fungi. *Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods* 241:270.
- Strickland MS, Rousk J (2010) Considering fungal:bacterial dominance in soils – Methods, controls, and ecosystem implications. *Soil Biology and Biochemistry* 42(9):1385-1395.
- Stroup, W. W. (2015). Rethinking the analysis of non-normal data in plant and soil science. *Agronomy journal*, 107(2), 811-827.
- Tegeder M, Rentsch D (2010) Uptake and Partitioning of Amino Acids and Peptides. *Molecular Plant* 3(6):997-1011.
- Thiele-Bruhn S, Bloem J, de Vries FT, Kalbitz K, Wagg C (2012) Linking soil biodiversity and agricultural soil management. *Current Opinion in Environmental Sustainability* 4(5):523-528.
- Tiziano G, David P, Maurizio GP (2011) Environmental Impact of Different Agricultural Management Practices: Conventional vs. Organic Agriculture. *Critical Reviews in Plant Sciences* 30(1-2):95-124.
- Triboï E, Martre P, Triboï-Blondel AM (2003) Environmentally-induced changes in protein composition in developing grains of wheat are related to changes in total protein content. *Journal of experimental botany* 54(388):1731-1742.
- Turner TR, James EK, Poole PS (2013) The plant microbiome. *Genome Biology* 14(6):209.
- Vandenkoornhuysen P, Quaiser A, Duhamel M, Le Van A, Dufresne A (2015) The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytol* 206(4):1196-1206.
- Veraverbeke WS, Delcour JA (2002) Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to breadmaking functionality. *Critical reviews in food science and nutrition* 42(3):179-208.
- Vinten AJ, Whitmore A, Bloem J, Howard R, Wright F (2002) Factors affecting N immobilisation/mineralisation kinetics for cellulose-, glucose- and straw-amended sandy soils. *Biology and Fertility of soils* 36(3):190-199.
- Volk TJ (2013) Fungi. *Encyclopedia of Biodiversity*, 10.1016/b978-0-12-384719-5.00062-9. p 624-640.

- von Wirén N, Gazzarrini S, Frommer WB (1997) Regulation of mineral nitrogen uptake in plants. *Plant and Soil* 196(2):191-199.
- Wang D, Wang S, Du X, He Q, Liu Y, Wang Z, Feng K, Li Y, Deng Y (2022a) ddPCR surpasses classical qPCR technology in quantitating bacteria and fungi in the environment. *Mol Ecol Resour* 10.1111/1755-0998.13644.
- Wang M, Khan MA, Mohsin I, Wicks J, Ip AH, Sumon KZ, Dinh C-T, Sargent EH, Gates ID, Kibria MG (2021) Can sustainable ammonia synthesis pathways compete with fossil-fuel based Haber–Bosch processes? *Energy & Environmental Science* 14(5):2535-2548.
- Wang X-B, Azarbad H, Leclerc L, Dozois J, Mukula E, Yergeau É (2022b) A Drying-Rewetting Cycle Imposes More Important Shifts on Soil Microbial Communities than Does Reduced Precipitation. *Msystems* :e00247-00222.
- Whittaker RH (1969) New Concepts of Kingdoms of Organisms: Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms. *Science* 163(3863):150-160.
- Wolfenbarger L, Payne J (1980) Transport and utilization of amino acids by fungi. *Microorganisms and nitrogen sources* :63-87.
- Zanuzzi A, Arocena J, Van Mourik J, Cano AF (2009) Amendments with organic and industrial wastes stimulate soil formation in mine tailings as revealed by micromorphology. *Geoderma* 154(1-2):69-75.
- Zhu W-S, Wojdyla K, Donlon K, Thomas P, Eberle H (1990) Extracellular proteases of *Aspergillus flavus*: fungal keratitis, proteases, and pathogenesis. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 13(6):491-497.
- Zörb C, Ludewig U, Hawkesford MJ (2018) Perspective on Wheat Yield and Quality with Reduced Nitrogen Supply. *Trends in Plant Science* 23(11):1029-1037.