

Améliorer la biodisponibilité du phosphore : comment valoriser les compétences des plantes et les mécanismes biologiques du sol ?

Plassard C.¹, Robin A.², Le Cadre E.³, Marsden C.³, Trap J.⁴, Herrmann L.^{5,6}, Waithaisong K.^{3,1}, Lesueur D.^{5,6}, Blanchart E.⁷, Chapuis-Lardy L.⁴, Hinsinger P.¹

¹ INRA, UMR Eco&Sols, 2 Place P. Viala, F-34060 Montpellier

² CIRAD, UMR Eco&Sols, 2 Place P. Viala, F-34060 Montpellier

³ Montpellier SupAgro, UMR Eco&Sols, 2, Place P. Viala, F-34060 Montpellier

⁴ IRD, UMR Eco&Sols, 2 Place P. Viala, F-34060 Montpellier

⁵ School of Life and Environmental Sciences, Faculty of Science and Technology, Deakin University, Burwood, Victoria, Australia

⁶ CIRAD, UMR Eco&Sols, Land Development Department, Office of Science for Land Development, Chatuchak, Bangkok, Thailand

⁷ IRD, UMR Eco&Sols, Laboratoire des Radiosotopes, BP 3383, Route d'Andraisoro, 101 Antananarivo, Madagascar

Correspondance : plassard@supagro.inra.fr

Résumé

Les ions orthophosphates (Pi) représentent les seules formes de phosphore (P) utilisable par les cultures. Dans les sols, ils sont généralement présents à de faibles concentrations dans la solution, en raison des nombreux processus géochimiques contraignant leur mobilité et disponibilité. Les plantes et les micro-organismes associés, au travers de relations rhizosphériques, symbiotiques et par la prédation des populations microbiennes, modifient considérablement la quantité de P que la plante est capable d'acquérir tout au long de sa croissance (biodisponibilité). Cette revue décrit les différents processus (modifications des racines, rôle du pH, des anions organiques, des enzymes, de la microfaune et de la macrofaune) qui peuvent modifier la biodisponibilité du P dans la rhizosphère. Des pistes pour mieux valoriser le potentiel intrinsèque des végétaux et de l'écologie des organismes du sol et optimiser l'acquisition de P des cultures à partir du sol sont proposées.

Mots-clés : Architecture racinaire, poils racinaires, modélisation biogéochimique, rhizosphère, anions organiques, pH du sol, exsudation, enzymes, micro-organismes solubilisateurs de P, microfaune, vers de terre, mycorrhizes.

Abstract: Optimizing plant phosphorus acquisition from the soil

Orthophosphate ions (Pi) are the only forms of phosphorus (P) available to plants. In soils, they are generally present at low concentrations because of a number of geochemical processes that restrict their solubility and mobility. Plants, due to their own properties and those of their associated microorganisms *via* rhizosphere or symbiotic relationships, as well as soil fauna, are able to change the amount of P taken up by roots, defined as P bioavailability. This review describes the different processes (root changes, role of pH, organic anions, enzymes, microfauna and macrofauna) that affect P bioavailability in the rhizosphere. It also discusses how plant properties and soil ecology could be better used to optimize plant P acquisition from the soil.

Keywords: Root architecture, root hairs, biogeochemical modelling, rhizosphere, carboxylate, soil pH, enzymes, exudation, phosphorus solubilising microorganisms, microfauna, earthworms, mycorrhizas.

Introduction

Le phosphore (P) est le cinquième élément composant la matière vivante. Quelle que soit sa forme, l'atome de P est toujours associé à des atomes d'oxygène pour former le groupement phosphate PO_4^{3-} . La formation d'une liaison anhydride d'acide entre deux groupements phosphate (ex. ATP) riche en énergie (ΔG° de $-7,3 \text{ kcal mol}^{-1}$) lui confère un rôle central dans le stockage de l'énergie cellulaire. Le groupement phosphate entre aussi dans la composition de nombreuses molécules comme les acides nucléiques (ADN, ARN), les enzymes, les phosphoprotéines et les phospholipides, ce qui lui confère un rôle structural fondamental. Malgré une importance indéniable dans le cycle du vivant, l'approvisionnement en P à partir du milieu reste toutefois une contrainte majeure pour de nombreux organismes vivants du sol, en particulier pour les plantes. Ceci est dû au fait que seuls les ions orthophosphates (H_2PO_4^- et HPO_4^{2-}) notés Pi peuvent être absorbés par les êtres vivants. Ainsi, quelle que soit la richesse en P total d'un sol, seule une infime fraction de ce P est disponible pour les organismes vivants lors de leur cycle de développement. Ce P disponible est soit dans la solution du sol avec des concentrations très faibles en ions orthophosphates libres (de 0,1 à 10 μM) (Hinsinger, 2001), soit sous des formes de P qui vont pouvoir alimenter rapidement le pool de Pi de la solution du sol. De nombreux processus gouvernent la libération de Pi vers la solution du sol comme la sorption ou l'immobilisation de P, mais également les interactions avec les cations et la matière organique. Tous ces processus limitent drastiquement la disponibilité et la mobilité de Pi comparativement à d'autres éléments nutritifs comme l'azote (N) et le potassium (K). Ainsi, les modèles de nutrition ont identifié très tôt que la vitesse de diffusion des ions orthophosphates est le facteur limitant majeur de l'acquisition de P par les végétaux (Barber, 1995 ; Fardeau, 1993). Or, les plantes, en interagissant avec les microorganismes du sol, peuvent largement modifier l'environnement au voisinage des racines, c'est-à-dire la rhizosphère qui est une zone « bio-influencée » par la plante, à la base du concept de « biodisponibilité » (Harmsen, 2007). La biodisponibilité du P dans le sol peut ainsi varier considérablement d'une espèce végétale à l'autre selon ses capacités à modifier elle-même la disponibilité de Pi ou *via* les organismes naturellement présents dans sa rhizosphère. Cet article vise à faire le point sur les connaissances actuelles concernant les processus gouvernant la biodisponibilité de P dans la rhizosphère, qu'ils relèvent des plantes elles-mêmes ou des activités microbiennes ou fauniques du sol (Figure 1).

1. Exploration du sol

1.1 Croissance, architecture et poils racinaires

La croissance des racines et les modifications de l'architecture racinaire sont les premières stratégies mises en œuvre par les espèces végétales pour acquérir P quand il est limitant (Wrage et al., 2010). En particulier, un travail de modélisation récent (Pagès, 2011) a montré que l'augmentation de la longueur totale des racines est une stratégie très efficace pour acquérir des éléments peu mobiles comme le Pi. Ceci peut expliquer pourquoi les *Poaceae*, (comprenant les céréales cultivées) et leurs systèmes racinaires fasciculés explorant un large volume de sol, sont plus efficaces pour acquérir le Pi que des espèces dont les racines pivotantes moins ramifiées explorent un volume de sol plus faible (Hinsinger et al., 2015). Beaucoup d'études réalisées sur le haricot et le soja ont aussi montré que les génotypes avec un système racinaire ramifié en surface étaient plus performants que les génotypes avec un système racinaire peu ramifié et profond. Le caractère « angle racinaire » apparaît donc comme un trait important pour sélectionner des génotypes adaptés à une carence en P (Lynch, 2007), au moins dans les agroécosystèmes qui ne sont pas trop contraints par la sécheresse.

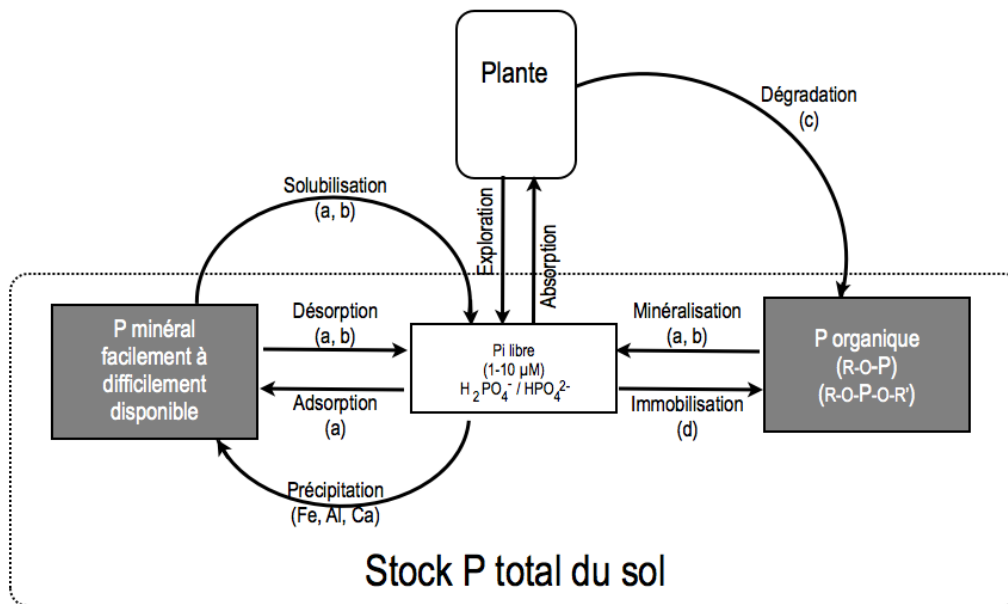


Figure 1 : Cycle simplifié du P montrant la répartition du stock total de P du sol entre les différents pools de P. La plante ne peut utiliser que le pool de phosphate inorganique (Pi) libre dans la solution du sol à partir duquel elle absorbe les ions orthophosphates ($\text{H}_2\text{PO}_4^- / \text{HPO}_4^{2-}$). Une meilleure exploration du sol permet d'augmenter l'accès au pool de Pi libre. Le pool de Pi libre est alimenté par le pool de P minéral plus ou moins facilement disponible via les phénomènes de désorption et/ou de solubilisation. Il peut aussi être alimenté par la minéralisation du P complexé au carbone via des liaisons monoester (R-O-P) ou diester (R-O-P-O-R') constituant le P organique du sol. Dans un sol, le pool de Pi libre représente une infime fraction du P total du sol. Les différentes fonctions sont influencées par a) les variations de pH ; b) la production d'anions organiques ; c) la production de phosphatases ou de phytases, d) l'immobilisation de P dans la fraction microbienne du sol.

Un processus important pour répondre aux variations de la disponibilité en P est la plasticité de l'architecture racinaire, d'une part en réponse à un enrichissement local en P et d'autre part à des conditions de carence en P très fortes. Par exemple, Drew (1975) a montré qu'une céréale comme l'orge est capable de produire plus de racines, plus ramifiées, pour explorer des zones enrichies en P. Lorsque diverses espèces de dicotylédones sont soumises à une carence en Pi, on observe une double réponse, avec (i) une diminution, voire un arrêt de croissance de la racine primaire et donc un raccourcissement général de la longueur du système racinaire et (ii) une apparition de nombreux *primordia* de racines latérales et donc une ramification intense du système racinaire (Peret et al., 2014). Cette réponse à la carence en Pi dans le milieu a été très étudiée en particulier chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana* (Nussaume et al., 2011). Cette capacité de ramification du système racinaire est poussée à l'extrême chez les plantes vivant naturellement dans un environnement extrêmement pauvre en P disponible comme les *Proteaceae* qui produisent des racines « protéoïdes » (Lambers et al., 2011). Les espèces d'intérêt agronomique ne présentent pas ce type d'adaptation, sauf quelques *Fabaceae* dont le lupin blanc (*Lupinus albus*). Ces racines protéoïdes apparaissent comme une alternative à la symbiose mycorhizienne qui est présente chez la très grande majorité des espèces végétales mais qui est précisément absente chez les *Proteaceae* et les lupins. On peut noter aussi que les espèces végétales appartenant à l'ordre des *Brassicales* (comme le colza, la moutarde ou *A. thaliana*) et des *Caryophyllales* (comme la betterave) ne forment pas de mycorhizes. Enfin, les monocotylédones semblent présenter des modifications architecturales moins marquées par rapport à celles observées chez les dicotylédones. Par exemple, de jeunes plants de riz cultivés en conditions

limitantes en P ou non produisent autant de racines latérales, avec une longueur comparable. Par contre, les racines des plantes carencées en P sont plus ramifiées (Peret et al., 2014).

A côté de la croissance racinaire, on considère que les poils racinaires, qui sont des extensions des cellules épidermiques, présentent un potentiel très important pour augmenter l'efficacité d'acquisition du P du fait de leur faible coût en carbone (Brown et al., 2013). Des travaux pionniers utilisant des mutants d'orge sans poils racinaires ont montré que l'extension de la zone d'appauvrissement en P (environ 1 mm de la surface de la racine) était la moitié de celle mesurée sur un génotype normal produisant de longs poils racinaires (Gahoonia et al., 1997). Ces auteurs ont aussi montré que la longueur des poils racinaires était corrélée positivement avec l'acquisition de P chez l'orge. Plus récemment, Brown et al. (2013) ont montré par modélisation que la meilleure stratégie pour augmenter l'efficacité d'acquisition du P *via* les poils racinaires serait d'augmenter leur longueur et leur durée de vie plutôt que leur densité. Très récemment, l'utilisation des rayons X dans un synchrotron a permis d'obtenir des images des interactions des poils racinaires de racines de blé avec l'arrangement tridimensionnel des agrégats dans le sol (Keyes et al., 2013). Les résultats obtenus montrent que la diminution de P dans la solution de sol est plus localisée que celle opérée par les racines et est fortement dépendante de l'orientation du poil racinaire et de son contact avec les agrégats de sol. Finalement, les auteurs ont pu calculer que les surfaces de contact développées par les poils racinaires et les racines étaient équivalentes, ce qui démontre bien l'importance des poils racinaires dans l'acquisition de P. Les travaux de Vandamme et al. (2013) ont aussi montré que l'efficacité d'acquisition de P par différents génotypes de soja dépendait d'abord du phénotype « poils racinaires » et ensuite de la symbiose mycorhizienne. La prise en compte de la plasticité du système racinaire en réponse aux perceptions de la plante à son environnement a été récemment modélisée (Leitner et al., 2010), ce qui ouvre des perspectives intéressantes pour des applications de placement des engrais phosphatés afin d'optimiser l'acquisition du P par les plantes.

1.2. Bactéries rhizosphériques et symbiose mycorhizienne

Plusieurs études ont montré que les racines émettent différents composés carbonés et différents signaux chimiques dans leur rhizosphère qui attirent sélectivement des populations microbiennes capables de métaboliser ces molécules et qui se multiplient préférentiellement dans la rhizosphère (e.g. (Droge et al., 2012)). Ces communautés microbiennes associées aux racines formant le « rhizo-microbiome » (Chaparro et al., 2013) ont une composition différente de celle du sol non colonisé par les racines. Des études ont également montré que la composition des exsudats racinaires peut changer le long du système racinaire (Berg et Smalla, 2009), ce qui expliquerait pourquoi le rhizo-microbiome est modifié par le stade de développement de la plante. Parmi les populations microbiennes du rhizo-microbiome, les bactéries dites promotrices de la croissance des plantes (PGPR pour « Plant Growth Promoting Rhizobacteria ») sont largement représentées. Ces populations bactériennes PGPR forment une « symbiose associative » (Droge et al., 2012) et doivent être très compétitives pour coloniser la zone racinaire. Une fois la colonisation établie, les bactéries PGPR peuvent stimuler la croissance de la plante à travers divers mécanismes. On peut notamment distinguer les mécanismes indirects comme la production de phytohormones ou de régulateurs de croissance (Dodd et al., 2010) ou la capacité des bactéries à modifier l'équilibre hormonal de la plante (Vacheron et al., 2013). L'ensemble de ces propriétés conduisent finalement à une augmentation de la croissance racinaire et donc à une meilleure prospection du sol par les racines. Les bactéries PGPR peuvent aussi modifier directement la disponibilité en P par la production d'anions organiques ou d'enzymes (voir sections suivantes) et finalement l'absorption de P par la plante (Richardson et al., 2009).

Les associations mycorhiziennes entre un champignon du sol et les racines des plantes sont très répandues puisqu'elles s'établissent avec environ 80 % des taxons végétaux (Brundrett, 2002). Les plantes d'intérêt agronomique forment exclusivement des symbioses avec les champignons endomycorhiziens à arbuscules appartenant à la division des *Glomeromycota* (Brundrett, 2002). Les hyphes des champignons endomycorhiziens qui émanent de la racine contribuent fortement à

augmenter le volume de la rhizosphère qui peut alors être désignée par le terme de « mycorrhizosphère » (Jansa et al., 2005), augmentant ainsi la capture des ressources inaccessibles aux racines non mycorhizées. Ceci est particulièrement important pour les nutriments peu mobiles comme le P (Hinsinger et al., 2011b). Alors que la longueur des poils racinaires est d'environ 1 mm, les hyphes des champignons endomycorhiziens peuvent s'étendre jusqu'à plusieurs cm de la surface de la racine (Jakobsen et al., 1992). On peut par ailleurs remarquer que la symbiose endomycorhizienne diminue généralement la croissance des poils racinaires des racines colonisées, bien que cet effet puisse dépendre de l'espèce fongique (Sun et Tang, 2013). Cependant, cet effet dépressif sur les poils racinaires est largement compensé par la croissance des hyphes qui peut représenter jusqu'à 1 m de filament fongique par mm de longueur de racine (Allen, 2007). De plus, le diamètre très faible des hyphes leur permet de pénétrer dans la porosité fine du sol qui est inaccessible aux poils racinaires et aux racines.

2. Absorption et mobilisation de P inorganique dans la rhizosphère

2.1 Régulation des systèmes de transport de Pi

La régulation de l'expression des systèmes de transport de Pi dans les racines constitue aussi un moyen d'augmenter le prélèvement de Pi à partir de la solution du sol. Les séquences disponibles dans les banques de données montrent que les gènes codant pour les systèmes de transport de Pi sont soit des symports H⁺:Pi (famille Pht1), soit des symports Na⁺:Pi (famille Pht2) (Casieri et al., 2013). Chez les végétaux, on trouve les transporteurs de la famille Pht2 uniquement dans les chloroplastes et les transporteurs de la famille de Pht1 dans toutes les parties de la plante et en particulier dans les racines. A titre d'exemple, *A. thaliana* possède 9 gènes Pht1 codant pour des transporteurs de Pi dont l'expression tissulaire est établie (Nussaume et al., 2011). D'un point de vue fonctionnel, le prélèvement de P par les racines est donc assuré uniquement par des transporteurs Pht1, ce qui signifie que le pH de la solution du sol ou des parois végétales doit être inférieur au pH cytoplasmique (~7) pour énergiser le transport des ions orthophosphates à travers la membrane plasmique *via* ces transporteurs de phosphate. D'autre part, certains de ces transporteurs dits à haute affinité sont spécifiquement induits par la carence en Pi dans la plante et leur présence augmente considérablement la capacité de transport du Pi à de très faibles concentrations, expliquant pourquoi on considère que le prélèvement de Pi n'est pas l'étape limitante dans l'acquisition de P.

L'association endomycorhizienne modifie fortement les voies d'absorption de Pi de la plante hôte par la mise en place d'une « voie mycorhizienne » qui peut assurer de 20 à 100% de l'entrée de Pi dans les plantes endomycorhizées (Facelli et al., 2010 ; Smith et al., 2004). L'expression des systèmes de transport de Pi de la plante localisés dans les cellules épidermiques est alors plus ou moins régulée négativement, ce qui diminue la capacité propre des racines endomycorhizées à absorber le Pi. Cette absence de transporteurs de Pi épidermiques est compensée par l'expression de nouveaux systèmes de transport de Pi spécifiquement induits par la mycorhization et localisés dans la membrane plasmique des cellules du cortex qui hébergent les arbuscules (Harrison et al., 2002 ; Rausch et al., 2001). Ainsi, les ions Pi absorbés par les hyphes loin de la racine sont transportés dans les arbuscules où ils franchissent la membrane plasmique fongique par un mécanisme encore inconnu (Smith et Smith, 2011) pour rejoindre le compartiment pariétal commun champignon/racine. Ces ions orthophosphates peuvent alors être prélevés par les systèmes de transport de la plante induits par la mycorhization. L'efficacité de la symbiose endomycorhizienne dépendra donc, *in fine*, de l'exploration du sol par les hyphes, de leur capacité à prélever le Pi dans le sol et surtout de libérer du Pi au niveau des arbuscules.

2.2 Effet des variations de pH rhizosphérique

Les modifications de pH dans la rhizosphère sont un levier puissant pour déterminer la disponibilité des formes inorganiques de P (Hinsinger, 2001). Dans les sols neutres à alcalins, le P inorganique est représenté largement par différentes formes de phosphates de Ca (principalement des apatites), tandis que dans les sols acides et profondément altérés, particulièrement abondants en zone tropicale, la plus grande partie du Pi est liée aux minéraux argileux 1/1 et aux oxy(hydr)oxydes de Fe et d'Al (Jones et Oburger, 2011). La quantité d'ions orthophosphates (Pi) retenue par adsorption sur les sites d'échanges dépend du pH de la solution du sol. En effet, le pH de la solution de sol détermine la quantité de charges développées à la surface des argiles, de la matière organique et des oxy(hydr)oxydes de fer et d'aluminium du sol et les formes d'ions orthophosphates. Les travaux de Devau et al. (2009) montrent l'importance du pH sur la disponibilité du phosphore en modifiant l'adsorption des ions phosphates. Par ailleurs, le phosphore apporté au sol par les engrais phosphatés peut être précipité par les formes libres de calcium, de fer ou d'aluminium plus ou moins abondantes selon le type de sol, et conduire à la néoformation de minéraux stables (Tisdale et al., 1985). Selon le cation, la même variation de pH produit des effets opposés car une acidification augmente la solubilisation des phosphates de Ca alors qu'elle diminue la solubilité des phosphates de Fe et d'Al (Figure 2).

Outre leurs effets sur la dissolution/précipitation de ces minéraux phosphatés, les variations de pH dans la rhizosphère engendrées par les racines ou les micro-organismes peuvent fortement modifier le potentiel d'adsorption des minéraux, et donc la disponibilité de Pi (Geelhoed et al., 1999), conduisant finalement à la libération de Pi au profit de compartiments plus disponibles pour la plante. Devau et al. (2010) ont développé une approche de modélisation mécaniste qui a révélé que l'augmentation du pH dans la rhizosphère de blé dur a également affecté la charge de surface des minéraux argileux dans les sols neutres, et par conséquent la désorption de Pi adsorbé sur ces minéraux qui sont abondants dans la plupart des types de sols. De plus, ces auteurs ont montré que la concentration en Ca affectait fortement les charges de surface des minéraux argileux, charges qui sont donc susceptibles de changer à la suite de l'absorption de Ca par les racines. Finalement, cette approche de modélisation a permis de montrer qu'une augmentation, aussi bien qu'une diminution, de pH pouvait entraîner une augmentation de la disponibilité du P du sol (Devau et al., 2011).

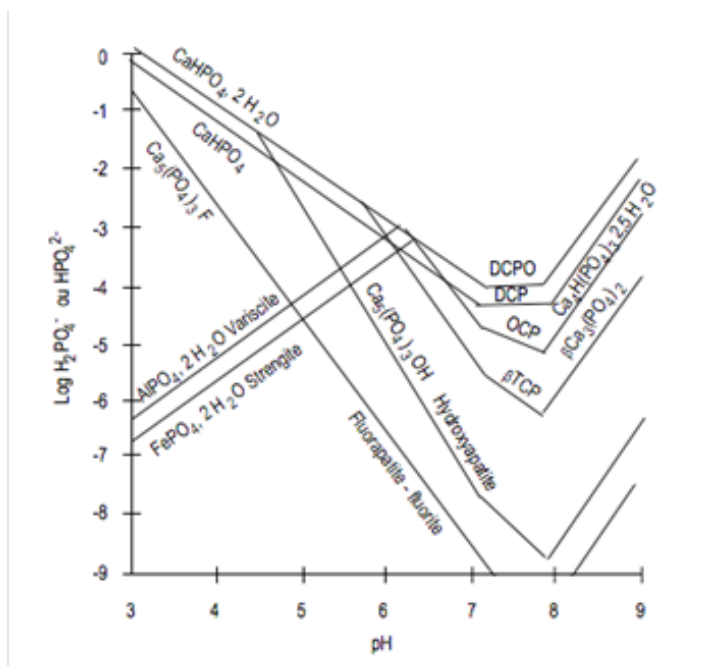


Figure 2 : Diagramme de solubilité des minéraux phosphatés en fonction du pH (redessiné d'après Lindsay et Moreno, 1960).

Les racines des plantes peuvent augmenter ou diminuer le pH de la rhizosphère jusqu'à trois unités pH selon le pouvoir tampon du sol (Hinsinger, 2013), principalement *via* un efflux ou un influx de protons

résultant de l'absorption d'un excès de charges positives ou négatives par les cellules de la racine (Hinsinger et al., 2003). Ces procédés sont rapides et présentent une variabilité spatiale et temporelle considérable au voisinage des racines actives (Blossfeld et al., 2013). L'alimentation azotée des plantes influence très fortement les variations de pH dans la rhizosphère car l'absorption d'ammonium induit toujours une acidification (absorption d'un excès de cations) alors que l'absorption de nitrate induit plutôt une alcalinisation (absorption d'un excès d'anions).

Une nutrition azotée ammoniacale appliquée à des cultures en sols neutres ou proches de la neutralité doit donc augmenter l'acquisition de P. Par exemple, Hinsinger et Gilkes (1996) ont montré une plus grande dissolution d'apatite lorsque le ray-grass a été cultivé en présence d'ammonium par rapport au nitrate, due au renforcement de l'acidification de la rhizosphère. Une forte acidification de la rhizosphère des légumineuses alimentées par la fixation symbiotique de l'azote est également observée, en particulier autour des nodosités (Blossfeld et al., 2013). Cependant, la nature des minéraux phosphatés peut jouer sur la capacité des légumineuses à acquérir le Pi. Pearse et al. (2006) ont montré qu'après une application de phosphate de calcium, les espèces de lupin sont plus efficaces que le blé pour acquérir le P du sol, alors que le résultat contraire est observé si on applique du phosphate d'aluminium. Ces résultats sont en accord avec les effets de l'acidification et de l'alcalinisation rhizosphériques sur la dissolution de ces deux composés. Ces propriétés contrastées des céréales et des légumineuses peuvent être utilisées pour cultiver ces espèces en association, ce qui pourrait amener un effet de facilitation entre espèces (Betencourt et al., 2012 ; Hinsinger et al., 2011a). D'autre part, l'application des engrais phosphatés avec des engrais ammoniacaux peut également favoriser la prolifération des racines et améliorer la disponibilité du P en raison de l'acidification localisée induite par l'ammonium (Jing et al., 2010).

Les changements de pH de la rhizosphère ne proviennent pas seulement de la physiologie des racines mais aussi des populations microbiennes associées aux racines. Dans le cas des champignons endomycorhiziens, il n'y a pour l'instant pas de preuve que cette symbiose soit responsable de changements importants de pH dans la mycorrhizosphère. Par contre, la capacité à dissoudre des minéraux phosphatés insolubles fournis dans un milieu de culture solide est un trait fonctionnel couramment utilisé pour sélectionner des microorganismes dits « solubilisateurs de phosphate » (PSM pour *P-Solubilizing Microorganisms*). Dans la plupart des cas, le phosphate tricalcique est utilisé pour effectuer des tests de solubilisation qui sont positifs si la colonie bactérienne est capable de créer un halo de dissolution autour d'elle (Mehta et Nautiyal, 2001). Ce test, très simple à mettre en œuvre, donne néanmoins des résultats peu fiables et insuffisants pour identifier des souches PSM vraiment efficaces (Bashan et al., 2013). Ces auteurs préconisent plutôt d'utiliser une combinaison de deux ou trois formes phosphatées ensemble ou en tandem, selon le type de sol et l'utilisation finale des bactéries ciblées : phosphate de calcium (y compris les phosphates naturels) pour les sols alcalins, et phosphates de fer ou d'aluminium pour les sols acides. Cette stratégie réduirait sans doute significativement le nombre potentiel de souches solubilisatrices de P, mais maximiserait les chances de sélectionner des souches les plus efficaces, capables de contribuer à la nutrition phosphatée des plantes. En plus des sources de P utilisées pour les sélections, il serait également possible de mesurer les activités de solubilisation des bactéries selon la source d'azote, en fournissant de l'ammonium ou du nitrate. La comparaison des résultats pour ces deux milieux donnerait des premières indications sur les mécanismes de solubilisation qui peuvent résulter soit d'une acidification issue de l'équilibre anions-cations (visible sur NH_4^+) ou de la production d'anions organiques accompagnés de protons (visible sur NO_3^-).

2.3 Effet de la production d'anions organiques

Les carboxylates et les acides carboxyliques correspondants, également appelés anions organiques à faible poids moléculaire (LMWOA, pour *Low Molecular Weight Organic Acid*), sont d'une importance majeure pour la mobilisation de P du sol. Comme proposé par Jones (1998), les carboxylates sont

capables de favoriser la libération de Pi par (i) échange de ligands des sites d'adsorption du P et (ii) la complexation d'ions métalliques tels que Ca, Al ou Fe impliqués dans l'immobilisation du P.

Chez les plantes, les acides carboxyliques résultent du métabolisme et sont produits à partir des produits de la photosynthèse. Une fois produits par la machinerie métabolique, les acides carboxyliques sont complètement dissociés dans le cytoplasme et se trouvent donc sous leur forme anionique avec une ou plusieurs charges négatives selon le composé (Jones et al., 2003). Pour agir sur la mobilisation de P, ils doivent être libérés dans le milieu extérieur par des systèmes de transport qui sont des canaux anioniques (Wang et al., 2007). Pour maintenir la neutralité électrique du transport de carboxylates, une quantité équivalente de charges positives doit les accompagner. Lorsque ces charges positives sont des protons, on a alors une acidification du milieu ; lorsque les charges positives sont d'autres cations comme le potassium, la libération de carboxylates ne s'accompagne pas d'une acidification.

La capacité des plantes à libérer des carboxylates a été étudiée chez de nombreuses espèces au cours des dernières décennies, et les résultats montrent des variations considérables entre espèces et des flux plutôt faibles pour de nombreuses espèces d'intérêt agronomique. Les légumineuses semblent avoir une plus grande capacité pour libérer des carboxylates que les autres espèces, en particulier le lupin blanc au niveau de ses racines protéoïdes (Lambers et al., 2013). Le lupin blanc a donc été utilisé comme espèce modèle pour étudier les mécanismes de synthèse et les facteurs qui régulent la libération des carboxylates. Parmi les facteurs, une faible disponibilité en Pi augmente le nombre et la biomasse des racines protéoïdes ainsi que le flux de citrate (Shen et al., 2005). En système simplifié, les racines de lupin produisent du citrate autour des racines protéoïdes mais aussi du malate. Les travaux de Zhu et al. (2005) ont montré que le citrate est libéré avec plusieurs cations, alors que le malate est libéré principalement avec des protons, ce qui indique que le lupin blanc est capable de libérer à la fois des carboxylates et des acides carboxyliques. La plupart des études sur le lupin blanc ont porté sur le citrate et le malate, mais des résultats récents ont montré que l'oxalate était libéré dans le sol rhizosphérique à des vitesses six fois plus élevées que les deux autres anions organiques (Mimmo et al., 2011). Cependant, dans cette dernière étude, les plantes ont été cultivées dans des conditions non stériles, et l'oxalate peut provenir soit des racines, soit des populations microbiennes (ou des deux). De façon plus générale, la nature des carboxylates prédominants libérés varie en fonction de l'espèce végétale. De plus, Pearse et al. (2007) ont aussi démontré que la libération de carboxylates n'explique qu'en partie les capacités des différentes espèces à accéder aux diverses formes de P peu solubles du sol.

L'ajout de carboxylates marqués dans la rhizosphère montre que ces molécules sont dégradées rapidement par les populations microbiennes, avec des temps de demi-vies de quelques heures (Jones, 1998). Cependant, les microorganismes de la rhizosphère peuvent également produire des carboxylates, comme l'acide malique, l'acide oxalique ou l'acide citrique détectés en culture pure (Khan et al., 2007), avec des quantités et des types de carboxylates produits variant avec la souche microbienne.

La libération concomitante de protons ou d'autres cations avec les carboxylates peut avoir un effet considérable sur la libération de Pi dans le sol, comme montré par Palomo et al. (2006). Ces auteurs ont comparé l'impact de l'acide citrique (citrate-H) et du citrate de potassium (citrate-K) dans la mobilisation et l'acquisition de Pi par de jeunes plants de maïs (*Zea mays*) cultivés dans deux types de sols acides. Dans un Cambisol, l'acide citrique a augmenté d'un facteur 10 la concentration en Pi mesurée dans la solution du sol par rapport à celle mesurée dans l'eau, alors qu'un effet beaucoup plus lent et quatre fois plus faible a été obtenu en présence de citrate-K. En revanche, dans le Podzol, l'addition d'acide citrique n'a pas augmenté la concentration en Pi dans la solution alors que le citrate-K a abouti à un effet significatif. La même tendance a été observée lorsque différents carboxylates ont été appliqués, avec ou sans co-acidification, dans plusieurs types de sols (Oburger et al., 2011). Dans ces travaux, le citrate, qui comporte trois fonctions carboxyles, est toujours le carboxylate le plus efficace pour augmenter la mise en solution de P, quel que soit le type de sol. Cependant, en utilisant une

approche de modélisation, Duputel et al. (2013) ont constaté que lorsque le sol contient de grandes quantités de minéraux argileux, le citrate apporté à faible concentration ($10 \mu\text{mol kg}^{-1}$ de sol) réduit la disponibilité en P_i dans la solution en augmentant son adsorption par des interactions électrostatiques avec les ions Ca adsorbés. Pris dans leur ensemble, ces résultats indiquent que l'effet réel des anions organiques sur l'augmentation de la biodisponibilité de P va dépendre de multiples facteurs, comme leur vitesse de production par les racines et les populations microbiennes qui leur sont associées, leur forme, leur persistance, et finalement, la nature du sol.

3. Minéralisation de P organique dans la rhizosphère

Le P organique est défini comme l'ensemble des composés organiques produits par des organismes vivants, comprenant un ou plusieurs groupes de P_i (au moins un P_i lié à un carbone par une liaison covalente, généralement une liaison ester). Il peut représenter 30 à 90% du P total du sol (Jones et Oburger, 2011). Le P organique du sol se trouve sous diverses formes chimiques, mais principalement sous forme d'inositol-6-phosphate (phytate) et secondairement sous forme de sucres phosphatés, d'acides nucléiques et de phospholipides (Quiquampoix et Mousain, 2005). Pour être utilisé par les plantes et les micro-organismes, le P organique doit être minéralisé par des phosphatases qui sont des enzymes qui peuvent être d'origine animale, végétale ou microbienne (Richardson et Simpson, 2011).

3.1 Activité enzymatique

L'activité enzymatique est souvent plus élevée dans les zones bio-influencées comme la rhizosphère des plantes mais également la détritusphère ou la drilosphère. Concernant le P, les phosphatases jouent un rôle essentiel dans le recyclage du P organique en P_i et leur activité semble être plus importante dans la rhizosphère que dans le sol non-rhizosphérique lorsqu'elles sont cartographiées dans les sols (Grierson et Comerford, 2000 ; Spohn et Kuzyakov, 2013). Les phosphatases sont introduites dans le sol par sécrétion active ou après lyse cellulaire (Tadano et al., 1993), et la minéralisation du phosphore organique peut être réalisée par des phosphatases extracellulaires qui soit restent liées à la paroi, soit sont libres dans le milieu (Jones et Oburger, 2011). Cependant, la différenciation entre les activités intra- et extra-cellulaires reste encore problématique, et dans la plupart des cas, seules les activités extra-cellulaires sont étudiées (Jones et Oburger, 2011 ; Nannipieri et al., 2011). Même s'il est difficile de connaître l'origine de ces phosphatases (Quiquampoix et Burns, 2007), de nombreux exemples montrent que les enzymes microbiennes prédominent dans le sol (Plante, 2007). Elles présentent en outre une plus grande efficacité pour la libération de P_i (Tarafdar et al., 2001). On recense différents types de phosphatases, comprenant des phosphomonoestérases, des phosphodiesterases, et des hydrolases capables d'hydrolyser les fonctions anhydride d'acide ou les liaisons P-N (Nannipieri et al., 2011). Les phosphomonoestérases (incluant les phytases) ont été les plus étudiées, en particulier chez les micro-organismes solubilisant le P (Jones et Oburger, 2011). Les phosphatases sont souvent classées en fonction du pH optimal pour leur activité (Hoffmann, 1968). Bien que les micro-organismes soient capables de produire à la fois des phosphatases dites acides et alcalines, les plantes ne produisent que des phosphatases acides (Nannipieri et al., 2011). Les phosphatases peuvent être adsorbées sur la phase solide du sol, en particulier sur les argiles, modifiant ainsi leurs propriétés catalytiques (Quiquampoix et Mousain, 2005). Elles sont aussi généralement soumises à des processus d'inhibition, de biodégradation et de stabilisation dans le sol (Nannipieri et al., 2011). Récemment, Spohn et Kuzyakov (2013) ont utilisé une nouvelle méthode (la zymographie) pour analyser la distribution de l'activité enzymatique *in situ*. Les distributions des activités des phosphatases alcaline et acide ont été caractérisées pour rechercher s'il existait une relation entre les rhizodépôts et les activités enzymatiques. Alors que l'activité de la phosphatase acide est très étroitement associée à la présence de racines, l'activité de la phosphatase alcaline est plus largement distribuée dans le sol. L'activité phosphatase alcaline est également élevée dans les parties de la rhizosphère avec peu d'allocation de photosynthétats récents, indiquant que la rhizodéposition et

l'activité des microorganismes produisant des activités phosphatase alcaline ne sont pas directement liées.

Les activités phosphatase sont régulées par un certain nombre de facteurs, comme la disponibilité du Pi du sol ou son contenu en matière organique (Nsabimana et al., 2004 ; Snajdr et al., 2008 ; Stursova et Baldrian, 2011). Inversement, la quantité de Pi disponible dans les sols n'est pas toujours liée à l'activité phosphatase (Venkatesan et Senthurpandian, 2006), et l'application de Pi peut réprimer la synthèse de phosphomonoestérases dans le sol (Nannipieri et al., 2011). En utilisant la dilution isotopique du ^{33}P , Spohn et al. (2013) ont suggéré que la libération des exsudats racinaires par la plante était une stratégie pour augmenter la minéralisation microbienne de P organique et la disponibilité du P. Les changements dans les activités phosphatasiques du sol ont été attribués à des changements dans la composition des communautés microbiennes (Nannipieri et al., 2011). L'application des outils moléculaires pour étudier le cycle du P dans les communautés microbiennes est plus difficile que pour le cycle de N, en raison des difficultés à cibler des gènes spécifiques impliqués dans le cycle du P. Cependant, des méthodes récemment développées portant sur la détection de gènes de phosphomonoestérases alcalines ont été appliquées avec succès dans les sols. Par exemple, la communauté bactérienne produisant la phosphatase alcaline (par suivi du gène ALP) a été utilisée pour comparer la gestion des essais de terrain à long terme, montrant que la fertilisation affecte les bactéries à ALP dans la rhizosphère de plants d'orge (Chhabra et al., 2013 ; Tan et al., 2013). Ces gènes ALP ont également été utilisés pour comparer les activités phosphatasiques dans la rhizosphère du blé cultivé en monoculture ou en culture associée avec des légumineuses. Les résultats montrent que l'espèce végétale affecte plus fortement la composition de la communauté d'espèces mobilisant le P que le mode de culture (Wang et al., 2007 ; Wang et al., 2012). Cependant, ces études ont porté sur un seul type de phosphatase, et il est urgent de développer des nouveaux outils ciblant d'autres gènes et de déterminer les enzymes les plus efficaces pour hydrolyser le P organique dans les sols.

3.2 L'intérêt particulier des phytases

La minéralisation du phytate, qui est la forme majoritaire de P organique dans les sols, requiert l'intervention d'enzymes spécifiques, les phytases. Ces enzymes sont des phosphomonoestérases produites dans le sol par un large éventail d'organismes, dont les champignons, les bactéries et les plantes. Elles ont été regroupées en quatre classes selon leur mécanisme d'hydrolyse, leur spécificité de substrat, la structure de la protéine et leur pH optimal. Ces quatre classes sont : les phosphatases acides à histidine (HAP), les phytases à hélice beta (BPP), les phytases à cystéine (CPhy), et les phosphatases acides pourpres (PAP) (Jorquera et al., 2008a). Les phytases HAP comprennent deux sous-classes, appelées PhyA et PhyB, qui sont des phytases fongiques caractérisées chez le champignon saprophyte *Aspergillus niger* bien que ces deux classes d'enzymes soient également présentes chez les champignons filamenteux, les bactéries, les levures et les plantes. Les travaux de Wyss et al. (1999) ont établi que PhyA avait une forte activité spécifique pour le phytate à pH de 5 (pH optimal 5,5) alors que phyB a très peu d'activité à ce pH. PhyB a une activité optimale à pH 2,5, valeur qui est très éloignée des valeurs de pH des sols, même très acides. Les enzymes HAP peuvent libérer jusqu'à cinq groupements Pi lorsque le phytate ne complexe aucun métal (Oh et al., 2004). Elles ne sont pas strictement spécifiques du phytate car elles sont actives sur de nombreux autres phosphomonoesters (Wyss et al., 1999). Les enzymes BPP sont des phytases bactériennes dont la présence a été démontrée uniquement chez les Bacilles (Gram+) et *Shewanella oneidensis* (Gram-). Ces enzymes ont une spécificité très étroite pour le phytate de calcium car elles ne peuvent hydrolyser aucun autre composé phosphaté. La présence de calcium est aussi indispensable pendant l'activité catalytique qui présente un pH optimal neutre ou légèrement alcalin (pH 7-8). Les enzymes BPP libèrent au maximum trois Pi par molécule de phytate (Oh et al., 2004). Les phytases à cystéine (CPhy) sont caractérisées par un motif à cystéine dans la protéine, et libèrent jusqu'à cinq groupements Pi à un pH optimal de 4 à 5,5 (Mullaney et Ullah, 2007). Les enzymes PAP sont des phytases végétales et sont principalement

présentes chez les légumineuses, comme le soja. A ce jour, aucune enzyme PAP n'a été purifiée à partir de bactéries (Jorquera et al., 2008a).

Si les plantes possèdent des phytases qui sont actives au moment de la germination des graines pour remobiliser les réserves de Pi contenues dans le phytate des graines, elles sont généralement peu capables d'utiliser le phytate comme seule source de P lorsqu'il est fourni dans le milieu extérieur. Ceci est dû au fait que les espèces végétales ne sécrètent pas leurs phytases dans le milieu extérieur, comme cela a été montré chez *A. thaliana* (Richardson et al., 2001). Utiliser les phytases microbiennes apparaît donc comme une option prometteuse pour mobiliser les réserves de phytate dans les sols pauvres en Pi. Pour améliorer l'acquisition de P par les plantes, Richardson et al. (2001) ont introduit par génie génétique la phytase fongique (PhyA) de *A. niger* dans les plantes d'*A. thaliana*. Après transformation, les activités phytase mesurées dans les racines des plantes transformées ont été 20 fois supérieures à celle mesurées dans les plantes non transformées. Les plantes transgéniques ont mieux utilisé le P du phytate que les plantes sauvages, avec une augmentation de leur croissance et du P contenu dans la biomasse aérienne (Richardson et al., 2001). Toutefois, ces effets positifs sur la croissance des plantes ont surtout été observés lorsque les expériences ont été menées dans des conditions artificielles, en l'absence de sol, alors que la sécrétion de phytase dans les plantes transgéniques a rarement permis d'améliorer la croissance et l'acquisition de P des plantes cultivées en présence de sol (George et al., 2005). Cette absence d'effet de la phytase dans le sol a été attribuée à une possible adsorption du substrat et de l'enzyme sur les minéraux et la matière organique du sol, qui varie selon le pH du sol, conduisant à une perte de l'activité phytase jusqu'à 95% (Giaveno et al., 2010). Burns et al. (2013) ont émis que des procédés d'immobilisation de certaines enzymes du sol pouvaient protéger leur activité. Cette stratégie a été étudiée récemment par Trouillefeu et al. (2014). Ces auteurs ont montré que la protection de l'enzyme de *A. niger* dans des nanomatériaux a effectivement permis d'augmenter l'acquisition de P par de jeunes plantules de *Medicago truncatula* en conditions simplifiées (substrat solide à base de sable). Si cet effet positif se maintenait en conditions de sol, cette innovation pourrait avoir un avenir.

Comme pour la solubilisation du P minéral, la rhizosphère abrite des bactéries capables de minéraliser le phytate (Jorquera et al., 2008b). La densité et les propriétés de ces populations ont été établies à partir de sols rhizosphériques prélevés chez des haricots cultivés sous Pi suffisant ou déficient (Maougal et al., 2014). Seul le sol déficient en Pi a entraîné un enrichissement de la rhizosphère en bactéries minéralisatrices de phytate par rapport au sol non-rhizosphérique. Les quatre mêmes genres bactériens (Gram-) ont été isolés pour les deux concentrations en P inorganique : *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Enterobacter* et *Salmonella*. Les capacités de ces souches à libérer du Pi en minéralisant le phytate ont été mesurées en culture liquide. Les bactéries isolées de la rhizosphère du sol déficient en P ont libéré plus rapidement et en plus grande quantité du Pi à partir de phytate que celles provenant du sol où P était en quantité jugée suffisante pour la croissance du haricot. Parmi ces genres, *Salmonella* a été le plus actif pour libérer le Pi, bien qu'il n'ait été trouvé qu'une seule fois pour chaque condition de P. En revanche, *Pseudomonas*, qui libère le Pi moins vite que *Salmonella*, était abondamment présent dans les deux conditions de culture. Comme suggéré par Maougal et al. (2014), ce genre bactérien pourrait être impliqué dans l'adaptation des légumineuses à de faibles disponibilités de P dans le sol. Ces bactéries minéralisatrices de phytate pourraient donc être utilisées comme bio-inoculant pour les cultures.

4. Actions de la microfaune et des ingénieurs du sol sur le recyclage de P dans la rhizosphère

De plus en plus de travaux sont menés depuis une dizaine d'années pour décortiquer l'ensemble des processus biologiques liés à la dynamique du P dans les sols et la rhizosphère. Les régulations

trophiques (prédation) ou non trophiques (modification de l'environnement abiotique) exercées par des activités fauniques sur les populations microbiennes de la rhizosphère ont notamment été étudiées.

4.1 Phosphore microbien et boucle microbienne : l'importance de la prédation

Avec des ressources carbonées facilement disponibles, les microorganismes du sol vivant dans la rhizosphère (bactéries et champignons) peuvent rapidement minéraliser le P de la matière organique du sol et l'incorporer dans leur biomasse. Le P microbien (sous forme inorganique ou organique) représente donc un puits important de P dans le sol et les écosystèmes terrestres (Xu et al., 2013), mais aussi une source importante de P disponible pour les plantes (Bünemann et al., 2013 ; Oberson et al., 2001) si ce P est libéré dans le milieu. Deux types de processus peuvent opérer le recyclage du P microbien et le rendre disponible pour les plantes : les processus abiotiques et biotiques.

Parmi les processus abiotiques, la lyse des cellules bactériennes par la réhumectation des sols secs ou pendant les cycles de gel-dégel au début de la saison de croissance des plantes peut libérer de grandes quantités de P (Pi, polyphosphates et P organique) dans la solution du sol. Par exemple, Turner et al. (2003) ont montré, qu'après séchage du sol, la contribution potentielle de la lyse des cellules bactériennes au P extrait à l'eau varie entre 88 et 95% dans deux sols de pâturage australiens. Le mécanisme suggéré par ces auteurs est que la lyse des cellules bactériennes a été induite par un choc osmotique dû à la réhydratation rapide des cellules desséchées. Dans un autre exemple, Pesaro et al. (2004) ont montré que la biomasse bactérienne, mesurée par les concentrations en ADN, a diminué de 51% suite à l'assèchement du sol et sa réhydratation. Ces données expérimentales expliquent les changements saisonniers dans la fraction microbienne du P du sol en fonction de la teneur en eau gravimétrique. Toutefois, il est important de noter que la résistance des cellules bactériennes à ces processus physiques peut varier selon les espèces. Ainsi, les alternances d'épisodes secs et humides ou de gel et de dégel peuvent modifier la composition et le profil fonctionnel de la communauté microbienne du sol entier (Placella et al., 2012). Cependant on ne connaît pas l'impact de ces processus physiques sur les variations du P disponible du sol qui seraient dues à des changements de composition des communautés microbiennes.

Parmi les processus biotiques, la prédation des bactéries par les microbivores (protozoaires et nématodes bactériovores) est responsable de la « boucle microbienne » qui permet de remobiliser les éléments contenus dans les bactéries, comme N et P. Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer les effets des prédateurs sur la nutrition phosphatée des plantes (Anderson et al., 1981 ; Griffiths, 1986). Tout d'abord, les prédateurs peuvent directement excréter au voisinage des racines du Pi ou des composants bactériens non digérés contenant du P. En effet, une grande partie des constituants des bactéries ingérées par les protozoaires et les nématodes n'est pas assimilée et les composants microbiens modifiés ou non digérés peuvent être libérés au bénéfice des microorganismes, des racines ou d'autres microbivores. On considère qu'environ 40% du C ingéré par les protozoaires et les nématodes sont utilisés pour la production de biomasse. En théorie, si le rapport C/P des microbivores était similaire à celui de leurs proies, ceux-ci pourraient excréter environ 60% du phosphore ingéré pour équilibrer la quantité de C utilisée pour leur biomasse (Griffiths, 1994). Cela signifie également que si les microbivores ont un rapport C/P supérieur à celui de leur proie (ce qui est probable pour les nématodes bactériovores), plus de 60% de la quantité de P ingéré serait finalement excrétée. Darbyshire et al. (1994) ont montré en culture liquide que la quantité de P excrétée par les ciliés du sol, *Colpoda steinii*, est multipliée par deux lorsque les bactéries ne sont pas limitées en P par rapport à des conditions limitantes. Ces résultats soulignent le rôle crucial de la stœchiométrie du rapport C/P dans les microorganismes du sol dans les effets des prédateurs dans le devenir du P du sol. Malheureusement, aucune information n'est disponible sur la valeur du rapport C/P des microbivores. Comblé cette lacune apporterait sans aucun doute de nouvelles hypothèses à tester pour mieux comprendre les interactions proies/prédateurs impliquées dans le recyclage du P.

En éliminant les cellules bactériennes âgées, les microbivores augmentent l'abondance relative des cellules jeunes avec une activité métabolique plus élevée. Il est donc fréquent d'observer que l'activité microbienne du sol est plus élevée en présence de protozoaires ou de nématodes par rapport au sol sans prédateurs (Coleman et al., 1978). Par exemple, la présence de nématodes bactériovores augmente les activités phosphatasiques mesurées dans le sol rhizosphérique du maïs, quel que soit le stade de croissance de la plante, tandis que la biomasse microbienne a tendance à diminuer (Djigal et al., 2004a ; Djigal et al., 2004b). Irshad et al. (2012) ont montré que la présence de nématodes bactériovores est indispensable pour que de jeunes plantes de pin maritime puissent acquérir du P à partir de phytate. Cet effet a été attribué à une augmentation potentielle de l'activité minéralisatrice du phytate par *Bacillus subtilis*. En plus d'accroître l'activité microbienne, les prédateurs peuvent également modifier la composition des communautés microbiennes dans la rhizosphère, en se nourrissant de façon sélective (Rosenberg et al., 2009). On a ainsi pu démontrer que les changements induits par une prédation sélective des communautés microbiennes pouvaient favoriser certaines fonctions microbiennes, comme la nitrification (Griffiths, 1989). Puisque les bactéries du sol sont des acteurs majeurs dans la régulation du devenir du P du sol, en particulier pour le P organique, les changements dans la composition de la communauté bactérienne induits par la prédation pourraient être l'une des voies les plus importantes expliquant les effets des prédateurs microbiens sur le cycle du P dans le sol.

De nombreuses expérimentations indiquent que l'addition de microbivores produit un effet positif sur la croissance des racines des plantes inoculées, indépendamment du niveau de nutriments disponibles pour la plante (Bonkowski et Clarholm, 2012 ; Bonkowski et al., 2009). Par exemple, Jentschke et al. (1995) ont observé une meilleure croissance de l'épicéa (jusqu'à +160%) en présence de protozoaires, malgré un apport d'éléments minéraux rendant les conditions du milieu non limitantes. Ils ont aussi observé une architecture racinaire modifiée avec une meilleure croissance des racines latérales. Comme cet effet est similaire à celui qui est observé avec l'inoculation de bactéries PGPR (voir section 1.2), Bonkowski et Brandt (2002) ont suggéré que les prédateurs puissent augmenter les populations PGPR par une prédation sélective de ces souches, augmentant ainsi la libération de substances hormonales dans la rhizosphère. Comme indiqué précédemment, une meilleure croissance des racines (surtout leur ramification) peut augmenter le volume d'exploration du sol et finalement l'absorption de P de la solution du sol (voir section 1.1). Une meilleure croissance des racines peut aussi augmenter la rhizodéposition, intensifiant en retour la croissance des populations bactériennes et les relations proie-prédateurs (Bonkowski, 2004). L'ensemble de ces interactions bactéries PGPR-microbivores dans la rhizosphère peut conduire à une modification de l'équilibre hormonal entre parties aériennes et racines (Krome et al., 2010), modifiant en retour la croissance de la plante. Cependant, l'effet de la prédation sur les modifications de la croissance du système racinaire et de son architecture pourrait aussi résulter d'une augmentation des populations microbiennes nitrifiantes et la disponibilité du nitrate dans la rhizosphère. En effet, le nitrate agit comme une molécule « signal », capable de moduler le développement de la plante en régulant l'expression d'un certain nombre de gènes (Sakakibara, 2003), ce qui pourrait produire des effets semblables aux hormones. Une disponibilité plus forte en nitrate induite par la prédation pourrait donc aussi améliorer l'acquisition de P par la plante *via* une meilleure croissance en longueur du système racinaire.

Comme évoqué précédemment, la symbiose mycorhizienne joue un rôle très important dans l'acquisition de P par de nombreuses plantes. En réduisant le nombre de bactéries et en libérant les nutriments bloqués dans la biomasse bactérienne dans le sol, les protozoaires et les nématodes peuvent modifier la concurrence qui existe entre les bactéries et les champignons mycorhiziens pour les éléments minéraux, en particulier P. De plus, en augmentant l'activité minéralisatrice des bactéries, la prédation peut stimuler le transfert de P du sol du réservoir de P organique vers celui du P inorganique. On peut donc penser que la présence simultanée de microbivores et des champignons mycorhiziens permettrait d'optimiser l'acquisition de P par les plantes dans des conditions limitantes en P. Malheureusement, ces interactions ont été très peu examinées, à part chez le pin maritime,

ectomycorhizé ou non. Les premiers résultats obtenus en conditions très simplifiées (gel d'agarose) montrent un effet très important de la présence de nématodes sur l'acquisition de P à partir de phytate, mais ne révèlent pas d'effet synergique entre mycorhization et prédation (Irshad et al., 2012). Ceci pourrait être dû au type de support utilisé et d'autres expérimentations en conditions de sol sont nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

Jusqu'ici, aucun effet direct des phages (virus) n'a été montré sur le cycle de P. Cependant, les phages pourraient bien jouer un rôle important dans le turnover du P microbien car ils sont capables d'infecter des bactéries et d'avoir un impact potentiellement important sur la dynamique des populations qui sont leurs hôtes. En effet, les phages peuvent entraîner 20% à 40% de mortalité bactérienne par lyse cellulaire. Cette mortalité pourrait à son tour influencer la disponibilité en ressources, comme celle provenant du P microbien (Kimura et al., 2008 ; Suttle, 2005). Contrairement aux écosystèmes aquatiques, les études portant sur l'impact des phages sur les communautés microbiennes dans les écosystèmes terrestres, et en particulier dans les sols, sont plutôt récentes (Buee et al., 2009 ; Kimura et al., 2008 ; Li et al., 2013 ; Swanson et al., 2009). Des populations d'environ 10^7 à 10^9 particules virales ont été estimées par g de sol nu ou dans du sol rhizosphérique (Ashelford et al., 2003 ; Swanson et al., 2009 ; Williamson et al., 2013). La lysogénie, qui correspond au cycle de vie dans lequel le génome du phage (le prophage) est maintenu dans le chromosome bactérien ou comme élément extra-chromosomique, est relativement fréquente chez les bactéries du sol. Elle a été constatée pour des bactéries bénéfiques isolées à partir de végétaux comme *Azospirillum* (Williamson et al., 2008). Enfin, de nombreuses cellules visiblement infectées par des phages ont été observées dans le sol (Takahashi et al., 2013). Pris dans leur ensemble, ces éléments suggèrent que la lyse bactérienne par les phages pourrait aussi contribuer de façon non négligeable – mais qui reste à quantifier – au turnover du P microbien dans le sol et donc à la disponibilité en P pour les plantes.

4.2 Effets des vers de terre sur la disponibilité en P

Outre leur effet bénéfique sur la structure et l'aération du sol, il est reconnu que les vers de terre – « ingénieurs » du sol – peuvent augmenter la fertilité du sol en jouant sur la dynamique des nutriments à différentes échelles spatiales et temporelles (Brown et al., 1999). Trois grands groupes fonctionnels de vers de terre ont été décrits par Bouché (1977) : épigé, endogé et anécique. Les vers de terre épigés vivent dans la couche de litière, consomment la litière végétale et ingèrent rarement le sol. Les vers de terre endogés sont pour la plupart des consommateurs de la matière organique du sol et creusent des galeries dans le sol à la fois horizontalement et verticalement. Les vers anéciques se nourrissent de matière organique particulaire mélangée à des particules de sol et forment souvent des galeries profondes, essentiellement verticales, où ils enterreront la litière de surface avant de la ré-ingérer une fois décomposée. L'activité des vers de terre endogés et anéciques engendre des galeries creusées dans le sol et des déjections (les turricules) qui correspondent au sol et à ses sous-produits qui ont transité dans l'intestin du ver de terre.

La comparaison des propriétés chimiques ou physico-chimiques des turricules par rapport à celles du sol non ingéré est rapportée dans un certain nombre de travaux. La plupart de ces études montrent que les turricules sont caractérisés par une teneur en P plus élevée lorsqu'elle est mesurée après extraction avec de l'eau ou des méthodes d'extraction douce (méthodes de Bray ou de Truog) (Chapuis-Lardy et al., 2011). Les mêmes tendances sont obtenues lorsqu'on mesure le P total ou différentes fractions de P des turricules. Par exemple, les déjections de vers de terre en Amazonie sont aussi enrichies en P total, P disponible et modérément disponible (Kuczak et al., 2006). Mais l'augmentation de P concerne aussi le P organique et le P microbien (Guggenberger et al., 1996 ; Jimenez et al., 2003).

Quels sont les mécanismes à la base de ces augmentations de la disponibilité en P dans les turricules de vers de terre ? Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer ces changements dans la disponibilité du phosphore : (i) le pH plus élevé du contenu de l'intestin (Barois et Lavelle, 1986), (ii) des changements dans l'adsorption de P_i sur la phase minérale du sol induits par une compétition entre les

ions phosphates et des groupes carboxyles d'une glycoprotéine de mucus produit par les vers de terre dans leur intestin (Chapuis-Lardy et al., 2009 ; Lopez-Hernandez et al., 1993), et (iii) une augmentation de l'activité microbienne lors de la digestion (Lopez-Hernandez et al., 1993). La question de l'adsorption de P_i sur le complexe d'échange du sol a été abordée en détail avec *Pontoscolex corethrus* (*Glossoscolecidae*), une espèce endogée très répandue en climat tropical. Lopez-Hernandez et al. (1993) ont montré que pour deux sols tropicaux ayant une capacité d'adsorption de P_i contrastée, les turricules frais avaient une plus grande disponibilité en P que le sol non-ingéré. D'autre part, l'utilisation du traçage isotopique ^{32}P a permis de montrer que (i) la concentration en phosphate dans la solution et (ii) la vitesse d'échange avec les ions phosphate adsorbés sur les constituants du sol étaient augmentées dans les turricules produits par *P. corethrus* (Chapuis et Brossard, 1995). Ces résultats ont été confirmés pour deux sols malgaches ingérés par *P. corethrus* (Chapuis-Lardy et al., 2009). Les auteurs ont ainsi pu montrer que l'ingestion d'un sol à haut pouvoir fixateur vis-à-vis des ions orthophosphates par un ver de terre endogé induisait une transformation du P inorganique du sol en une forme plus rapidement échangeable, qui peut alimenter le pool de P_i disponible dans la solution du sol.

Les turricules contiennent aussi de fortes quantités de P organique (par exemple, pour *P. corethrus*, probablement issues d'une ingestion sélective des particules fines du sol (Chapuis-Lardy et al., 1998). Plusieurs études ont signalé une augmentation de l'activité enzymatique des déjections de vers de terre et la stimulation de l'activité microbienne dans ces déjections (Chapuis-Lardy et al., 1998 ; Le Bayon et Binet, 2006 ; Lopez-Hernandez et al., 1993). Cependant, Zhang et al. (2000) ont observé une augmentation de P inorganique dans le sol en présence de vers de terre, en dépit d'une diminution des phosphatases acides et alcalines dans les turricules de vers de terre, suggérant que le P organique est minéralisé dans l'intestin plutôt que dans les turricules. Cette hypothèse avait déjà été suggérée par Devliegher et Verstraete (1996). Ces auteurs ont montré que l'augmentation du P inorganique dans les sols en présence de vers de terre était due à la production de phosphatases alcalines par les vers de terre et une stimulation de la production de phosphatase microbienne (acide) par l'activité des vers de terre. Ces données sont favorables à un processus de minéralisation du P organique associé à l'intestin plutôt qu'aux turricules. Dans l'ensemble, la plus grande disponibilité de P_i observée en présence de vers de terre peut être reliée à un turnover accéléré d'un matériel présentant une teneur accrue en P organique. Cette augmentation de P_i corrélée à une diminution de P organique a également été mesurée par Coulis et al. (2014) ; ces auteurs ont aussi mis en évidence une meilleure acquisition du P par les plantes (pois chiche notamment) en présence du ver de terre endogé tempéré *Allolobophora chlorotica*. Toutefois, en fonction des espèces dominantes, l'activité des vers de terre pourrait aussi entraîner la protection du P organique dans les macro-agrégats stables et une fixation supérieure de P_i sur les hydroxydes de fer et d'aluminium (Scheu et Parkinson, 1994a;b ; Suarez et al., 2004). Toutes les hypothèses sur les transformations du P organique portées par les vers de terre et leurs effets sur le cycle de P du sol pourraient être vérifiées en utilisant les isotopes radioactifs ^{32}P ou ^{33}P .

Ces effets des vers de terre sur l'augmentation de P_i dans le sol pourraient être amplifiés par la mycorhization qui augmente le volume de sol exploré. De rares travaux le suggèrent, comme par exemple une étude utilisant du ^{32}P pour suivre le devenir du P dans le sol et entre des plantes inoculées avec des champignons endomycorhiziens en présence d'un ver de terre endogé tempéré (*Aporrectodea caliginosa*) (Tuffen et al., 2002). Les résultats obtenus montrent un transfert plus élevé de ^{32}P dans le sol ainsi qu'entre les plantes (donneur ou receveur) endomycorhizées en présence de vers de terre.

Néanmoins, on peut conclure que les vers de terre changent nettement l'état biogéochimique du P (disponibilité, pool de P organique, activités enzymatiques) dans leurs intestins et dans le sol où ils sont actifs (la drilosphère, *sensu stricto* (Lavelle et al., 1997), comprenant les turricules et les parois des galeries. Toutefois, leur impact sur la dynamique de P et la disponibilité de P_i dans le sol dépend des propriétés particulières du sol, de la source de P organique et des comportements spécifiques des vers pour creuser leurs galeries ainsi que leurs préférences alimentaires. Il convient donc de coupler les

études s'appuyant, en mésocosmes, sur l'outil isotopique à des quantifications en milieu réel des groupes trophiques dominants et des quantités de sol ingérées en fonction du milieu (climat, usage des terres et type de sol).

5. Comment améliorer la biodisponibilité du P à partir de nos connaissances ?

Les travaux scientifiques récents décrits dans cette synthèse permettent de mieux comprendre les processus limitant la disponibilité du P pour les cultures. Malgré la complexité des déterminants de la biodisponibilité du phosphore révélée par l'ensemble des travaux scientifiques, nous pouvons proposer des pistes pour transposer ces nouvelles connaissances en termes d'applications agronomiques. Ces pistes incluent (i) l'amélioration végétale, (ii) la valorisation des différentes formes de phosphore du sol *via* la stimulation des activités biologiques du sol et (iii) une meilleure prédiction de la biodisponibilité potentielle du P dans le sol.

L'amélioration végétale est un véritable enjeu à relever en proposant de nouveaux critères de sélection des variétés « efficaces pour le P » basés sur des caractères phénotypiques impliqués dans l'acquisition du P, comme l'exploration du sol (architecture du système racinaire, poils racinaires) ou l'association avec des microorganismes bénéfiques (capacité de mycorhization, production d'exsudats racinaires stimulant une population microbienne bénéfique ou favorisant la désorption du P).

La valorisation des différentes formes de P du sol qu'elles soient organiques ou minérales est également indispensable. A ce titre, la stimulation de l'activité des organismes du sol est souhaitable. La mobilisation de la composante biologique des sols est particulièrement prometteuse soit en favorisant l'inoculation microbienne (enrobage des semences, apport d'inoculum fongique d'espèces endomycorhiziennes) soit en favorisant l'activité biologique par des pratiques culturales adaptées. Par exemple, la symbiose endomycorhizienne est très sensible à un excès de P et les régimes de fertilisation excessive pratiqués dans l'agriculture conventionnelle des pays européens ont certainement un impact négatif qu'il est urgent de déterminer avec précision. On peut aussi tenter (ce qui a trop rarement été testé) d'apporter des organismes tels que les vers de terre (Stockdill, 1982). En effet, la littérature scientifique décrit les mécanismes utilisés par les organismes du sol pour accéder aux formes de P organiques non directement accessibles aux plantes comme le phytate. Différentes stratégies basées sur la préservation des enzymes produites par ces organismes ou sur les interactions trophiques afin de stimuler la production d'enzymes sont actuellement à l'étude. De manière générale, les nombreuses recherches concernant l'écologie des sols ouvrent des perspectives intéressantes. Ainsi, certains travaux pionniers mettent en évidence la modification de la biogéochimie du P en présence de vers de terre. Si ces travaux sont confirmés dans des contextes pédo-climatiques variés, les techniques de travail simplifié voire de non labour pourraient permettre une remobilisation du P. Une meilleure coordination des nutriments azotés et phosphatés pourrait également permettre d'accéder à des formes de P jugées *a priori* non disponibles en influençant la biogéochimie du P à proximité des racines ou en favorisant l'activité de microorganismes bénéfiques. La conception d'engrais de synthèse par les industries des engrais en combinant forme d'azote, vitesse de libération et placement pourrait également répondre en partie à la problématique de raréfaction de la ressource en P en favorisant la libération de P aux stades clés de développement de la plante et en coordonnant l'activité des microorganismes bénéfiques.

Au-delà de ces stratégies, une réflexion sur une meilleure caractérisation de stocks de phosphore du sol disponible pour les plantes est nécessaire, et ce, en prenant compte le contexte pédologique et les caractéristiques des cultures à implanter. En effet, il existe maintenant des outils de modélisation géochimique pour prédire la dynamique des phosphates en fonction de la minéralogie d'un sol, de son pH et des anions organiques présents, et ce avec de plus en plus de justesse et de précision. L'appropriation de ces outils par d'autres acteurs que la recherche scientifique est à approfondir car ils pourraient permettre de mieux simuler des interactions entre les racines et les organismes du sol.

L'optimisation de l'utilisation des ressources en P est donc possible à différentes échelles spatiales des plus fines comme celles relevant des microorganismes aux plus larges comme la parcelle agricole, et impliquant différents acteurs scientifiques, agriculteurs, sélectionneurs et industriels.

Références bibliographiques

Allen M.F., 2007. Mycorrhizal fungi: highways for water and nutrients in arid soils. *Vadose Zone Journal* 6, 291-297.

Anderson R.V., Coleman D.C., Cole C.V., Elliott E.T., 1981. Effect of the nematodes *Acrobeloides* sp. and *Mesodiplogaster Lheritieri* on substrate utilization and nitrogen and phosphorus mineralization in soil. *Ecology* 62, 549-555.

Ashelford K.E., Day M.J., Fry J.C., 2003. Elevated abundance of bacteriophage infecting bacteria in soil. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 285-289.

Barber S.A., 1995. Soil nutrient bioavailability: a mechanistic approach. John Wiley & Sons, New York.

Barois I., Lavelle P., 1986. Changes in respiration rate and some physicochemical properties of a tropical soil during transit through potoscolex-corethrus (*Glossoscolecidae*, *Oligochaeta*). *Soil Biology and Biochemistry* 18, 539-541.

Bashan Y., Kamnev A.A., De-Bashan L.E., 2013. Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth: a proposal for an alternative procedure. *Biology and Fertility of Soils* 49, 465-479.

Berg G., Smalla K., 2009. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology* 68, 1-13.

Betencourt E., Duputel M., Colomb B., Desclaux D., Hinsinger P., 2012. Intercropping promotes the ability of durum wheat and chickpea to increase rhizosphere phosphorus availability in a low P soil. *Soil Biology and Biochemistry* 46, 181-190.

Blossfeld S., Schreiber C.M., Liebsch G., Kuhn A.J., Hinsinger P., 2013. Quantitative imaging of rhizosphere pH and CO₂ dynamics with planar optodes. *Annals of Botany* 112, 267-276.

Bonkowski M., 2004. Protozoa and plant growth: the microbial loop in soil revisited. *New Phytologist* 162, 617-631.

Bonkowski M., Brandt F., 2002. Do soil protozoa enhance plant growth by hormonal effects? *Soil Biology and Biochemistry* 34, 1709-1715.

Bonkowski M., Clarholm M., 2012. Stimulation of Plant Growth through Interactions of Bacteria and Protozoa: Testing the Auxiliary Microbial Loop Hypothesis. *Acta Protozoologica* 51, 237-247.

Bonkowski M., Villenave C., Griffiths B., 2009. Rhizosphere fauna: the functional and structural diversity of intimate interactions of soil fauna with plant roots. *Plant and Soil* 321, 213-233.

Bouché M.B., 1977. Stratégies lombriciennes. *Ecol Bull* 25, 122-132.

Brown G., Pashanasi B., Villenave C., Patron J., Senapati B., Giri S., Barois I., Lavelle P., Blanchart E., Blakemore R., Spain A., Boyer J., 1999. Effects of earthworms on plant production in the tropics. In: P. Lavelle, L. Brussaard, P. Hendrix (eds), *Earthworm management in tropical agroecosystems*, 87-148. CABI, publishing, Wallingford, UK.

Brown L.K., George T.S., Dupuy L.X., White P.J., 2013. A conceptual model of root hair ideotypes for future agricultural environments: what combination of traits should be targeted to cope with limited P availability? *Annals of Botany* 112, 317-330.

Brundrett M.C., 2002. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist* 154, 275-304.

Buee M., De Boer W., Martin F., Van Overbeek L., Jurkevitch E., 2009. The rhizosphere zoo: An overview of plant-associated communities of microorganisms, including phages, bacteria, archaea, and fungi, and of some of their structuring factors. *Plant and Soil* 321, 189-212.

- Bünemann E.K., Keller B., Hoop D., Jud K., Boivin P., Frossard E., 2013. Increased availability of phosphorus after drying and rewetting of a grassland soil: processes and plant use. *Plant and Soil* 370, 511-526.
- Burns R.G., DeForest J.L., Marxsen J., Sinsabaugh R.L., Stromberger M.E., Wallenstein M.D., Weintraub M.N., Zoppini A., 2013. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry* 58, 216-234.
- Casieri L., Lahmidi N.A., Doidy J., Veneault-Fourrey C., Migeon A., Bonneau L., Courty P.-E., Garcia K., Charbonnier M., Delteil A., Brun A., Zimmermann S., Plassard C., Wipf D., 2013. Biotrophic transportome in mutualistic plant-fungal interactions. *Mycorrhiza* 23, 597-625.
- Chaparro J.M., Badri D.V., Bakker M.G., Sugiyama A., Manter D.K., Vivanco J.M., 2013. Root exudation of phytochemicals in *Arabidopsis* follows specific patterns that are developmentally programmed and correlate with soil microbial functions. *PLoS One* 8, e55731.
- Chapuis-Lardy L., Le Bayon R., Brossard M., López-Hernández D., Blanchart E., 2011. Role of soil macrofauna in Phosphorus cycling. In: E. Bünemann, A. Oberson, E. Frossard (eds), *Phosphorus in Action- Biochemical Processes in Soil Phosphorus Cycling*, 199-213. Springer Soil Biology Series 26, New York, USA.
- Chapuis-Lardy L., Brossard M., Lavelle P., Schouller E., 1998. Phosphorus transformations in a ferralsol through ingestion by *Pontoscolex corethrus*, a geophagous earthworm. *European Journal of Soil Biology* 34, 61-67.
- Chapuis-Lardy L., Ramiandrisoa R.S., Randriamanantsoa L., Morel C., Rabeharisoa L., Blanchart E., 2009. Modification of P availability by endogeic earthworms (*Glossoscolecidae*) in Ferralsols of the Malagasy Highlands. *Biology and Fertility of Soils* 45, 415-422.
- Chapuis L., Brossard M., 1995. Modifications et stabilité du phosphore échangeable d'un ferralsol ingéré par un ver géophage. *CR Acad Sci II A* 320, 587-592
- Chhabra S., Brazil D., Morrissey J., Burke J., O'Gara F., Dowling D.N., 2013. Fertilization management affects the alkaline phosphatase bacterial community in barley rhizosphere soil. *Biology and Fertility of Soils* 49, 31-39.
- Coleman D.C., Anderson R.V., Cole C.V., Elliott E.T., Woods L., Campion M.K., 1978. Trophic Interactions in Soils as They Affect Energy and Nutrient Dynamics .IV. Flows of Metabolic and Biomass Carbon. *Microbial Ecology* 4, 373-380.
- Coulis M., Bernard L., Gerard F., Hinsinger P., Plassard C., Villeneuve M., Blanchart E., 2014. Endogeic earthworms modify soil phosphorus, plant growth and interactions in a legume-cereal intercrop. *Plant and Soil* 379, 149-160.
- Darbyshire J.F., Davidson M.S., Chapman S.J., Ritchie S., 1994. Excretion of nitrogen and phosphorus by the soil ciliate *Colpoda steinii* when fed the soil bacterium *Arthrobacter* sp. *Soil Biology and Biochemistry* 26, 1193-1199.
- Devau N., Hinsinger P., Le Cadre E., Colomb B., Gerard F., 2011. Fertilization and pH effects on processes and mechanisms controlling dissolved inorganic phosphorus in soils. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 75, 2980-2996.
- Devau N., Le Cadre E., Hinsinger P., Gerard F., 2010. A mechanistic model for understanding root-induced chemical changes controlling phosphorus availability. *Annals of Botany* 105, 1183-1197.
- Devau N., Le Cadre E., Hinsinger P., Jaillard B., Gerard F., 2009. Soil pH controls the environmental availability of phosphorus: Experimental and mechanistic modelling approaches. *Applied Geochemistry* 24, 2163-2174.
- Devliegher W., Verstraete W., 1996. *Lumbricus terrestris* in a soil core experiment: Effects of nutrient-enrichment processes (NEP) and gut-associated processes (GAP) on the availability of plant nutrients and heavy metals. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 489-496.
- Djigal D., Brauman A., Diop T.A., Chotte J.L., Villenave C., 2004a. Influence of bacterial-feeding nematodes (*Cephalobidae*) on soil microbial communities during maize growth. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 323-331.

- Djigal D., Sy M., Brauman A., Diop T.A., Mountport D., Chotte J.L., Villenave C., 2004b. Interactions between *Zeldia Punctata* (*Cephalobidae*) and bacteria in the presence or absence of maize plants. *Plant and Soil* 262, 33-44.
- Dodd I.C., Zinovkina N.Y., Safronova V.I., Belimov A.A., 2010. Rhizobacterial mediation of plant hormone status. *Annals of Applied Biology* 157, 361-379.
- Drew M.C., 1975. Comparison of effects of a localized supply of phosphate, nitrate, ammonium and potassium on growth of seminal root system, and shoot, in barley. *New Phytologist* 75, 479-490.
- Drogue B., Doré H., Borland S., Wisniewski-Dyé F., Prigent-Combaret C., 2012. Which specificity in cooperation between phytostimulating rhizobacteria and plants? *Research in Microbiology* 163, 500-510.
- Duputel M., Van Hoyer F., Toucet J., Gérard F., 2013. Citrate adsorption can decrease soluble phosphate concentration in soil: Experimental and modeling evidence. *Applied Geochemistry* 39, 85-92.
- Facelli E., Smith S.E., Facelli J.M., Christophersen H.M., Smith F.A., 2010. Underground friends or enemies: model plants help to unravel direct and indirect effects of arbuscular mycorrhizal fungi on plant competition. *New Phytologist* 185, 1050-1061.
- Fardeau J.C., 1993. Available soil phosphate – Its representation by a functional multiple compartment model. *Agronomie* 13, 317-331.
- Gahoonia T.S., Care D., Nielsen N.E., 1997. Root hairs and phosphorus acquisition of wheat and barley cultivars. *Plant and Soil* 191, 181-188.
- Geelhoed J.S., Van Riemsdijk W.H., Findenegg G.R., 1999. Simulation of the effect of citrate exudation from roots on the plant availability of phosphate adsorbed on goethite. *European Journal of Soil Science* 50, 379-390.
- George T.S., Richardson A.E., Smith J.B., Hadobas P.A., Simpson R.J., 2005. Limitations to the potential of transgenic *Trifolium subterraneum* L. plants that exude phytase when grown in soils with a range of organic P content. *Plant and Soil* 278, 263-274.
- Giaveno C., Celi L., Richardson A.E., Simpson R.J., Barberis E., 2010. Interaction of phytases with minerals and availability of substrate affect the hydrolysis of inositol phosphates. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 491-498.
- Grierson P.F., Comerford N.B., 2000. Non-destructive measurement of acid phosphatase activity in the rhizosphere using nitrocellulose membranes and image analysis. *Plant and Soil* 218, 49-57.
- Griffiths B.S., 1986. Mineralization of nitrogen and phosphorus by mixed cultures of the ciliate protozoan *Colpoda steinii*, the nematode *Rhabditis* sp. and the bacterium *Pseudomonas fluorescens*. *Soil Biology and Biochemistry* 18, 637-641.
- Griffiths B.S., 1989. Enhanced nitrification in the presence of bacteriophagous protozoa. *Soil Biology and Biochemistry* 21, 1045-1051.
- Griffiths B.S., 1994. Soil nutrient flow. In: J.F. Darbyshire ed., *Soil protozoa*, 61-91. CABI, Wallingford, UK.
- Guggenberger G., Haumaier L., Thomas R.J., Zech W., 1996. Assessing the organic phosphorus status of an Oxisol under tropical pastures following native savanna using P-31 NMR spectroscopy. *Biology and Fertility of Soils* 23, 332-339.
- Harmsen J., 2007. Measuring bioavailability: From a scientific approach to standard methods. *Journal of Environmental Quality* 36, 1420-1428.
- Harrison M.J., Dewbre G.R., Liu J.Y., 2002. A phosphate transporter from *Medicago truncatula* involved in the acquisition of phosphate released by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Cell* 14, 2413-2429.
- Hinsinger P., 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and Soil* 237, 173-195.
- Hinsinger P., 2013. Plant-induced changes of soil processes and properties. In: J.G. Peter, N. Stephen (eds), *Soil Conditions and Plant Growth* 323-365. Wiley-Blackwell, Royaume-Uni.

- Hinsinger P., Betencourt E., Bernard L., Brauman A., Plassard C., Shen J.B., Tang X.Y., Zhang F.S., 2011a. P for two, sharing a scarce resource: soil phosphorus acquisition in the rhizosphere of intercropped species. *Plant Physiology* 156, 1078-1086.
- Hinsinger P., Brauman A., Devau N., Gerard F., Jourdan C., Laclau J.P., Le Cadre E., Jaillard B., Plassard C., 2011b. Acquisition of phosphorus and other poorly mobile nutrients by roots. Where do plant nutrition models fail? *Plant and Soil* 348, 29-61.
- Hinsinger P., Gilkes R.J., 1996. Mobilization of phosphate from phosphate rock and alumina-sorbed phosphate by the roots of ryegrass and clover as related to rhizosphere pH. *European Journal of Soil Science* 47, 533-544.
- Hinsinger P., Herrmann L., Lesueur D., Robin A., Trap J., Waithaisong K., Plassard C., 2015. Impact of roots, microorganisms, and microfauna on the fate of soil phosphorus in the rhizosphere. In: W. PLaxton, H. Lambers (eds), *Phosphorus metabolism in plants in the post-genomic era: from gene to ecosystems*. John Wiley And Sons, Ltd.
- Hinsinger P., Plassard C., Tang C.X., Jaillard B., 2003. Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: A review. *Plant and Soil* 248, 43-59.
- Hoffmann G., 1968. Phosphatases in the enzyme system of cultivated soils (in Germany) and possibilities of determining their activity. *Z. Pflanzenernährung Bodenkd.* 118, 153-160.
- Irshad U., Brauman A., Villenave C., Plassard C., 2012. Phosphorus acquisition from phytate depends on efficient bacterial grazing, irrespective of the mycorrhizal status of *Pinus pinaster*. *Plant and Soil* 358, 148-161.
- Jakobsen I., Abbott L.K., Robson A.D., 1992. External hyphae of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. 1.2. Hyphal transport of P^{32} over defined distances. *New Phytologist* 120, 509-516.
- Jansa J., Mozafar A., Frossard E., 2005. Phosphorus acquisition strategies within arbuscular mycorrhizal fungal community of a single field site. *Plant and Soil* 276, 163-176.
- Jentschke G., Bonkowski M., Godbold D.L., Scheu S., 1995. Soil Protozoa and Forest Tree Growth - Non-Nutritional Effects and Interaction with Mycorrhizae. *Biology and Fertility of Soils* 20, 263-269.
- Jimenez J.J., Cepeda A., Decaens T., Oberson A., Friesen D.K., 2003. Phosphorus fractions and dynamics in surface earthworm casts under native and improved grasslands in a Colombian savanna Oxisol. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 715-727.
- Jing J., Rui Y., Zhang F., Rengel Z., Shen J., 2010. Localized application of phosphorus and ammonium improves growth of maize seedlings by stimulating root proliferation and rhizosphere acidification. *Field Crops Research* 119, 355-364.
- Jones D.L., 1998. Organic acids in the rhizosphere – a critical review. *Plant and Soil* 205, 25-44.
- Jones D.L., Dennis P.G., Owen A.G., Hees P.A.W.v., 2003. Organic acid behavior in soils – misconceptions and knowledge gaps. *Plant and Soil* 248, 31-41.
- Jones D.L., Oburger E., 2011. Solubilization of phosphorus by soil microorganisms. In: E.K. Bünemann, A. Oberson, E. Frossard (eds), *Phosphorus in action. Biological Processes in Soil Phosphorus*, 169-198. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Jorquera M., Martínez O., Maruyama F., Marschner P., de la Luz Mora M., 2008a. Current and future biotechnological applications of bacterial phytases and phytase-producing bacteria. *Microbes and environments* 23, 182-191.
- Jorquera M.A., Hernandez M.T., Rengel Z., Marschner P., Mora M.D., 2008b. Isolation of culturable phosphobacteria with both phytate-mineralization and phosphate-solubilization activity from the rhizosphere of plants grown in a volcanic soil. *Biology and Fertility of Soils* 44, 1025-1034.
- Keyes S.D., Daly K.R., Gostling N.J., Jones D.L., Talboys P., Pinzer B.R., Boardman R., Sinclair I., Marchant A., Roose T., 2013. High resolution synchrotron imaging of wheat root hairs growing in soil and image based modelling of phosphate uptake. *New Phytologist* 198, 1023-1029.
- Khan M.S., Zaidi A., Wani P.A., 2007. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture - A review. *Agronomy for Sustainable Development* 27, 29-43.

- Kimura M., Jia Z.J., Nakayama N., Asakawa S., 2008. Ecology of viruses in soils: Past, present and future perspectives. *Soil Science and Plant Nutrition* 54, 1-32.
- Krome K., Rosenberg K., Dickler C., Kreuzer K., Ludwig-Muller J., Ullrich-Eberius C., Scheu S., Bonkowski M., 2010. Soil bacteria and protozoa affect root branching via effects on the auxin and cytokinin balance in plants. *Plant and Soil* 328, 191-201.
- Kuczak C.N., Fernandes E.C.M., Lehmann J., Rondon M.A., Luizao F.J., 2006. Inorganic and organic phosphorus pools in earthworm casts (Glossoscolecidae) and a Brazilian rainforest Oxisol. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 553-560.
- Lambers H., Clements J.C., Nelson M.N., 2013. How a phosphorus-acquisition strategy based on carboxylate exudation powers the success and agronomic potential of Lupines (*Lupinus*, Fabaceae). *American Journal of Botany* 100, 263-288.
- Lambers H., Finnegan P.M., Laliberte E., Pearse S.J., Ryan M.H., Shane M.W., Veneklaas E.J., 2011. Phosphorus Nutrition of Proteaceae in Severely Phosphorus-Impoverished Soils: Are There Lessons To Be Learned for Future Crops? *Plant Physiology* 156, 1058-1066.
- Lavelle P., Bignell D., Lepage M., Wolters V., Roger P., Ineson P., Heal O.W., Dhillon S., 1997. Soil function in a changing world: the role of invertebrate ecosystem engineers. *European Journal of Soil Biology* 33, 159-193.
- Le Bayon R.C., Binet F., 2006. Earthworms change the distribution and availability of phosphorus in organic substrates. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 235-246.
- Leitner D., Klepsch S., Bodner G., Schnepf A., 2010. A dynamic root system growth model based on L-Systems. *Plant and Soil* 332, 177-192.
- Li Y., Watanabe T., Murase J., Asakawa S., Kimura M., 2013. Identification of the major capsid gene (g23) of T4-type bacteriophages that assimilate substrates from root cap cells under aerobic and anaerobic soil conditions using a DNA-SIP approach. *Soil Biology and Biochemistry* 63, 97-105.
- Lindsay W.L., Moreno E.C., 1960. Phosphate phase equilibria in soils 1. *Soil Science Society America Journal* 23, 177-182.
- Lopez-Hernandez D., Lavelle P., Fardeau J.C., Nino M., 1993. Phosphorus transformations in 2 P-sorption contrasting tropical soil during transit through potoscolex-corethrus (Glossoscolecidae, Oligochaeta). *Soil Biology and Biochemistry* 25, 789-792.
- Lynch J.P., 2007. Roots of the second green revolution. *Australian Journal of Botany* 55, 493-512.
- Maougal R.T., Brauman A., Plassard C., Abadie J., Djekoun A., Drevon J.J., 2014. Bacterial capacities to mineralize phytate increase in the rhizosphere of nodulated common bean (*Phaseolus vulgaris*) under P deficiency. *European Journal of Soil Biology* 62, 8-14.
- Mehta S., Nautiyal C.S., 2001. An efficient method for qualitative screening of phosphate-solubilizing bacteria. *Current microbiology* 43, 51-56.
- Mimmo T., Hann S., Jaitz L., Cesco S., Gessa C.E., Puschenreiter M., 2011. Time and substrate dependent exudation of carboxylates by *Lupinus albus* L. and *Brassica napus* L. *Plant Physiology and Biochemistry* 49, 1272-1278.
- Mullaney E.J., Ullah A.H., 2007. Phytases: attributes, catalytic mechanisms, and applications. In: B.L. Turner, A.E. Richardson, E.J. Mullaney (eds), *Inositol Phosphates: Linking Agriculture and the Environment*, 97-110. CAB International, Oxfordshire, UK.
- Nannipieri P., Giagnoni L., Landi L., Renella R., 2011. Role of Phosphatase Enzymes in Soil. In: E. Bünemann, A. Oberson, E. Frossard (eds), *Phosphorus in Action: Biological Processes in Soil Phosphorus Cycling*, 215-244. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Nsabimana D., Haynes R.J., Wallis F.M., 2004. Size, activity and catabolic diversity of the soil microbial biomass as affected by land use. *Applied Soil Ecology* 26, 81-92.
- Nussaume L., Kanno S., Javot H., Marin E., Pochon N., Ayadi A., Nakanishi T.M., Thibaud M.-C., 2011. Phosphate import in plants: focus on the PHT1 transporters. *Frontiers in Plant Science* 2, 1-12.

- Obersson A., Friesen D.K., Rao I.M., Buhler S., Frossard E., 2001. Phosphorus Transformations in an Oxisol under contrasting land-use systems: The role of the soil microbial biomass. *Plant and Soil* 237, 197-210.
- Oburger E., Jones D.L., Wenzel W.W., 2011. Phosphorus saturation and pH differentially regulate the efficiency of organic acid anion-mediated P solubilization mechanisms in soil. *Plant and Soil* 341, 363-382.
- Oh B.C., Choi W.C., Park S., Kim Y.o., Oh T.K., 2004. Biochemical properties and substrate specificities of alkaline and histidine acid phytases. *Applied Microbiology and Biotechnology* 63, 362-372.
- Pagès L., 2011. Links between root developmental traits and foraging performance. *Plant Cell and Environment* 34, 1749-1760.
- Palomo L., Claassen N., Jones D.L., 2006. Differential mobilization of P in the maize rhizosphere by citric acid and potassium citrate. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 683-692.
- Pearse S.J., Veneklaas E.J., Cawthray G., Bolland M.D.A., Lambers H., 2006. *Triticum aestivum* shows a greater biomass response to a supply of aluminium phosphate than *Lupinus albus*, despite releasing fewer carboxylates into the rhizosphere. *New Phytologist* 169, 515-524.
- Pearse S.J., Veneklaas E.J., Cawthray G., Bolland M.D.A., Lambers H., 2007. Carboxylate composition of root exudates does not relate consistently to a crop species' ability to use phosphorus from aluminium, iron or calcium phosphate sources. *New Phytologist* 173, 181-190.
- Peret B., Desnos T., Jost R., Kanno S., Berkowitz O., Nussaume L., 2014. Root Architecture Responses: In Search of Phosphate. *Plant Physiology* 166, 1713-1723.
- Pesaro M., Nicollier G., Zeyer J., Widmer F., 2004. Impact of soil drying-rewetting stress microbial communities and activities and on degradation of two crop protection products. *Applied and Environmental Microbiology* 70, 2577-2587.
- Placella S.A., Brodie E.L., Firestone M.K., 2012. Rainfall-induced carbon dioxide pulses result from sequential resuscitation of phylogenetically clustered microbial groups. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109, 10931-10936.
- Plante A.F., 2007. Soil biogeochemical cycling of inorganic nutrients and metals. In: E.A. Paul ed., *Soil microbiology and biochemistry*, 391-398. Elsevier Academic Press, Burlington.
- Quiquampoix H., Burns R.G., 2007. Interactions between proteins and soil mineral surfaces: Environmental and health consequences. *Elements* 3, 401-406.
- Quiquampoix H., Mousain D., 2005. Enzymatic hydrolysis of organic phosphorus. In B.L. Turner, F.E., B.D.S. (eds). *Organic Phosphorus in the Environment*, 89-112. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Rausch C., Daram P., Brunner S., Jansa J., Laloi M., Leggewie G., Amrhein N., Bucher M., 2001. A phosphate transporter expressed in arbuscule-containing cells in potato. *Nature* 414, 462-466.
- Richardson A.E., Barea J.M., McNeill A.M., Prigent-Combaret C., 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil* 321, 305-339.
- Richardson A.E., Hadobas P.A., Hayes J.E., 2001. Extracellular secretion of *Aspergillus* phytase from *Arabidopsis* roots enables plants to obtain phosphorus from phytate. *The Plant Journal* 25, 641-649.
- Richardson A.E., Simpson R.J., 2011. Soil Microorganisms Mediating Phosphorus Availability. *Plant Physiology* 156, 989-996.
- Rosenberg K., Bertaux J., Krome K., Hartmann A., Scheu S., Bonkowski M., 2009. Soil *amoebae* rapidly change bacterial community composition in the rhizosphere of *Arabidopsis thaliana*. *ISME Journal* 3, 675-684.
- Sakakibara H., 2003. Nitrate-specific and cytokinin-mediated nitrogen signaling pathways in plants. *Journal of Plant Research* 116, 253-257.
- Scheu S., Parkinson D., 1994a. Effects of earthworms on nutrient dynamics, carbon turnover and microorganisms in soils from cool temperate forests of the Canadian Rocky Mountains - laboratory studies. *Applied Soil Ecology* 1, 113-125.

- Scheu S., Parkinson D., 1994b. Effects of invasion of an aspen forest (Canada) by *Dendrobaena-Octaedra* (Lumbricidae) on plant-growth. *Ecology* 75, 2348-2361.
- Shen J., Li H., Neumann G., Zhang F., 2005. Nutrient uptake, cluster root formation and exudation of protons and citrate in *Lupinus albus* as affected by localized supply of phosphorus in a split-root system. *Plant Science* 168, 837-845.
- Smith S.E., Smith F.A., 2011. Roles of Arbuscular Mycorrhizas in Plant Nutrition and Growth: New Paradigms from Cellular to Ecosystem Scales. *Annual Review of Plant Biology* 62, 227-250.
- Smith S.E., Smith F.A., Jakobsen I., 2004. Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. *New Phytologist* 162, 511-524.
- Snajdr J., Valaskova V., Merhautova V., Herinkova J., Cajthaml T., Baldrian P., 2008. Spatial variability of enzyme activities and microbial biomass in the upper layers of *Quercus petraea* forest soil. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 2068-2075.
- Spohn M., Ermak A., Kuzyakov Y., 2013. Microbial gross organic phosphorus mineralization can be stimulated by root exudates a P^{33} isotopic dilution study. *Soil Biology and Biochemistry* 65, 254-263.
- Spohn M., Kuzyakov Y., 2013. Distribution of microbial- and root-derived phosphatase activities in the rhizosphere depending on P availability and C allocation - Coupling soil zymography with C^{14} imaging. *Soil Biology and Biochemistry* 67, 106-113.
- Stursova M., Baldrian P., 2011. Effects of soil properties and management on the activity of soil organic matter transforming enzymes and the quantification of soil-bound and free activity. *Plant and Soil* 338, 99-110.
- Suarez E.R., Pelletier D.M., Fahey T.J., Groffman P.M., Bohlen P.J., Fisk M.C., 2004. Effects of exotic earthworms on soil phosphorus cycling in two broadleaf temperate forests. *Ecosystems* 7, 28-44.
- Sun X.G., Tang M., 2013. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on root traits and root volatile organic compound emissions of *Sorghum bicolor*. *South African Journal of Botany* 88, 373-379.
- Suttle C.A., 2005. Viruses in the sea. *Nature* 437, 356-361.
- Swanson M.M., Fraser G., Daniell T.J., Torrance L., Gregory P.J., Taliany M., 2009. Viruses in soils: morphological diversity and abundance in the rhizosphere. *Annals of Applied Biology* 155, 51-60.
- Tadano T., Ozawa K., Sakai H., Osaki M., Matsui H., 1993. Secretion of acid-phosphatase by the roots of crop plant under phosphorus-deficient conditions and some properties of the enzyme secreted by lupin roots. *Plant and Soil* 155, 95-98.
- Takahashi R., Saka N., Honjo H., Asakawa S., Kimura M., 2013. Comparison of the frequency of visibly infected bacterial cells between the soil and the floodwater in two Japanese rice fields. *Soil Science and Plant Nutrition* 59, 331-336.
- Tan H., Barret M., Mooij M.J., Rice O., Morrissey J.P., Dobson A., Griffiths B., O'Gara F., 2013. Long-term phosphorus fertilisation increased the diversity of the total bacterial community and the *phoD* phosphorus mineraliser group in pasture soils. *Biology and Fertility of Soils* 49, 661-672.
- Tarafdar J.C., Yadav R.S., Meena S.C., 2001. Comparative efficiency of acid phosphatase originated from plant and fungal sources. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 164, 279-282.
- Tisdale S., Nelson W., Beaton J., 1985. *Soil fertility and fertilizers* New York.
- Trouillefou C.M., Le Cadre E., Cacciaguerra T., Cunin F., Plassard C., Belamie E., 2014. Protected activity of a phytase immobilized in mesoporous silica with benefits to plant phosphorus nutrition. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, DOI 10.1007/s10971-014-3577-0, sous presse.
- Tuffen F., Eason W.R., Scullion J., 2002. The effect of earthworms and arbuscular mycorrhizal fungi on growth of and P-32 transfer between *Allium porrum* plants. *Soil Biology and Biochemistry* 34, 1027-1036.
- Turner B.L., Driessen J.P., Haygarth P.M., McKelvie I.D., 2003. Potential contribution of lysed bacterial cells to phosphorus solubilisation in two rewetted Australian pasture soils. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 187-189.

- Vacheron J., Desbrosses G., Bouffaud M.L., Touraine B., Moenne-Loccoz Y., Muller D., Legendre L., Wisniewski-Dye F., Prigent-Combaret C., 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers in Plant Science* 4, 1-19.
- Vandamme E., Renkens M., Pypers P., Smolders E., Vanlauwe B., Merckx R., 2013. Root hairs explain P uptake efficiency of soybean genotypes grown in a P-deficient Ferralsol. *Plant and Soil* 369, 269-282.
- Venkatesan S., Senthurpandian V.K., 2006. Potassium and phosphorus releasing capacity of latosols under tea cultivation in South India. *International Journal of Soil Sciences* 1, 227-234.
- Wang B.L., Shen J.B., Zhang W.H., Zhang F.S., Neumann G., 2007. Citrate exudation from white lupin induced by phosphorus deficiency differs from that induced by aluminum. *New Phytologist* 176, 581-589.
- Wang Y., Marschner P., Zhang F.S., 2012. Phosphorus pools and other soil properties in the rhizosphere of wheat and legumes growing in three soils in monoculture or as a mixture of wheat and legume. *Plant and Soil* 354, 283-298.
- Williamson K.E., Corzo K.A., Drissi C.L., Buckingham J.M., Thompson C.P., Helton R.R., 2013. Estimates of viral abundance in soils are strongly influenced by extraction and enumeration methods. *Biology and Fertility of Soils* 49, 857-869.
- Williamson K.E., Schnitker J.B., Radosevich M., Smith D.W., Wommack K.E., 2008. Cultivation-based assessment of lysogeny among soil bacteria. *Microbial Ecology* 56, 437-447.
- Wrage N., Chapuis-Lardy L., Isselstein J., 2010. Phosphorus, plant biodiversity and climate change. In: E.L. Sustainable Agriculture Reviews 3 ed., Sociology, Organic Farming, Climate Change and Soil Science. Springer, Dordrecht.
- Wyss M., Brugger R., Kronenberger A., Rémy R., Fimbel R., Oesterhelt G., Lehmann M., van Loon A.P.G.M., 1999. Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases): catalytic properties. *Applied and Environmental Microbiology* 65, 367-373.
- Xu X., Thornton P.E., Post W.M., 2013. A global analysis of soil microbial biomass carbon, nitrogen and phosphorus in terrestrial ecosystems. *Global Ecology and Biogeography* 22, 737-749.
- Zhang B.G., Li G.T., Shen T.S., Wang J.K., Sun Z., 2000. Changes in microbial biomass C, N, and P and enzyme activities in soil incubated with the earthworms *Metaphire guillelmi* or *Eisenia fetida*. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 2055-2062.
- Zhu Y., Yan F., Zörb C., Schubert S., 2005. A link between citrate and proton release by proteoid roots of white lupin (*Lupinus albus* L.) grown under phosphorus-deficient conditions? *Plant and Cell Physiology* 46, 892-901.