

## THÈSE DE DOCTORAT

Soutenue à Aix-Marseille Université  
le 24 janvier 2023 par

**Floriane Jamoteau**

# Stocker du C dans les sols : dynamique des matières organiques en interaction avec les nanophases du sol

**Discipline**

Sciences de  
l'environnement

**Spécialité**

Géosciences

**École doctorale**

ED 251 - Sciences de  
l'environnement

**Laboratoire/Partenaires  
de recherche**

Equipe environnement  
durable du CEREGE

Equipe recyclage et  
risque du CIRAD

Cofinancements : CIRAD et  
Région SUD

• **Composition du jury**

• **Claire Chenu** Rapporteuse

• DR - AgroParisTech, INRAE

• **Marco Keiluweit** Rapporteur

• PA - Université de Lausanne

• **Delphine Derrien** Examinatrice

• CR - Centre de Nancy, INRAE

• **Pierre Barré** Examineur

• DR - Laboratoire de Géologie, ENS Paris

• **Jérôme Rose** Président du jury

• DR - CEREGE, CNRS

• **Isabelle Basile-Doelsch** Directrice de thèse

• DR - CEREGE, INRAE

• **Samuel Legros** Co-directeur de thèse

• CR - Recyclage et risque, CIRAD

• **Antoine Versini** Invité

• CR - Recyclage et risque, CIRAD



# Affidavit

Je soussigné, Floriane Jamoteau, déclare par la présente que le travail présenté dans ce manuscrit est mon propre travail, réalisé sous la direction scientifique de Isabelle Basile-Doelsch et Samuel Legros, dans le respect des principes d'honnêteté, d'intégrité et de responsabilité inhérents à la mission de recherche. Les travaux de recherche et la rédaction de ce manuscrit ont été réalisés dans le respect à la fois de la charte nationale de déontologie des métiers de la recherche et de la charte d'Aix-Marseille Université relative à la lutte contre le plagiat.

Ce travail n'a pas été précédemment soumis en France ou à l'étranger dans une version identique ou similaire à un organisme examinateur.

Fait à Aix-en-Provence, le 16 novembre 2022



Cette œuvre est mise à disposition selon les termes de la [Licence Creative Commons Attribution - Pas d'Utilisation Commerciale - Pas de Modification 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).



# Affidavit

I, undersigned, Floriane Jamoteau, hereby declare that the work presented in this manuscript is my own work, carried out under the scientific direction of Isabelle Basile-Doelsch et Samuel Legros, in accordance with the principles of honesty, integrity and responsibility inherent to the research mission. The research work and the writing of this manuscript have been carried out in compliance with both the French national charter for Research Integrity and the Aix-Marseille University charter on the fight against plagiarism.

This work has not been submitted previously either in this country or in another country in the same or in a similar version to any other examination body.

Place Aix-en-Provence, date 16 novembre 2022



Cette œuvre est mise à disposition selon les termes de la [Licence Creative Commons Attribution - Pas d'Utilisation Commerciale - Pas de Modification 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).



# Liste de publications et participation aux conférences

## 1) Liste des publications réalisées dans le cadre du projet de thèse :

Publié,

1. Floriane Jamoteau, Jérôme Balesdent, Isabelle Basile-Doelsch, Emmanuel Tillard and Antoine Versini. "Can stable isotopes quantify soil carbon build-up from organic fertilizers?", *Isotopes in Environmental and Health Studies*, <https://doi.org/10.1080/10256016.2021.1946532> (2021)

En préparation,

2. Floriane Jamoteau, Nithavong Cam, Clément Levard, Ryan Farquharson, Jeff Baldock, Janine McGowan, Solène Quero, Thierry Woignier, Luc Rangon, Daniel Borchneck and Isabelle Basile-Doelsch. Titre temporaire: *Destabilization of organo-mineral associations in form of coprecipitates by a forest-to-crop conversion*. In preparation.
3. Floriane Jamoteau, Nithavong Cam, Clément Levard, Thierry Woignier, Adrien Boulineau, Romain Soulas, Daniel Borschnek, Emmanuel Doelsch and Isabelle Basile-Doelsch. Titre temporaire: *Characterization of natural coprecipitates at nanoscales: case of a forest and cultivated andosol*. In preparation.

## 2) Participation aux conférences et écoles d'été au cours de la période de thèse :

Conférences internationales

1. (Poster) Floriane Jamoteau, Isabelle Basile-Doelsch, Baptiste Hulin, Christine Hatté, Emmanuel Tillard,, Antoine Versini. *15-years of organic fertilization led to an increase of total C but also turnover of native-C using <sup>13</sup>C*. **22<sup>nd</sup> World Congress of Soil Science 2022**, Glasgow, 25-29 Jul 2022.
2. (Presentation) Floriane Jamoteau, Jérôme Balesdent, Isabelle Basile-Doelsch, Emmanuel Tillard, et Antoine Versini: *Quantification of soil C inputs from organic fertilizers in tropical long-term field experiments: potential of stable carbon isotopes*. **EGU General Assembly 2021**, online, 19-30 Apr 2021, EGU21-8841, <https://doi.org/10.5194/egusphere-egu21-8841>, 2021.
3. (Presentation) Floriane Jamoteau, Nithavong Cam, Clément Levard, Thierry Woignier, Romain Soulas, Adrien Boulineau, Jérôme Balesdent, et Isabelle Basile-Doelsch. *Nanoscale chemical imaging of soil organo-mineral associations*. SSS5.6, **EGU General Assembly 2020**, EGU2020, Vienna, Austria, 4-8 may 2020. <https://doi.org/10.5194/egusphere-egu2020-4678>
4. (Poster) Floriane Jamoteau, Nithavong Cam, Clément Levard, Thierry Woignier, Romain Soulas, Adrien Boulineau, Jérôme Balesdent, et Isabelle Basile-Doelsch, *Nanoscale chemical imaging of organo-mineral fractions of an andosol (La Martinique, France)*, **Soil Organic Matter in a stressed world, 7th**

**International Symposium on Soil Organic Matter, SOM2019**, Adelaide, Australia, 6-11 october 2019.

Conférences nationales et workshops :

1. (Presentation) Floriane Jamoteau, Nithavong Cam, Emmanuel Doelsch, Clément Levard, Perrine Chaurand et Isabelle Basile-Doelsch. Imagerie chimique et spéciation des associations organo-minérales par MET (EDX et EELS) et STXM. **Workshop Imagerie des Sols INRAE, 19-20 octobre 2021** à Saint Rémy-lès-Chevreuse.
2. (Presentation) Floriane Jamoteau, Nithavong Cam, Clément Levard, Adrien Boulineau, Jérôme Balesdent, Emmanuel Doelsch, Jérôme Rose, and Isabelle Basile-Doelsch. Imagerie chimique des associations organo-minérales du sol à l'échelle nanométrique, **Journée d'étude des sols (2021)**.
3. (Poster) Floriane Jamoteau, Jérôme Balesdent, Isabelle Basile-Doelsch, Emmanuel Tillard and Antoine Versini. *Quantification of the fate of organic carbon in a long-term tropical fertilization experiment: The potential of stable carbon isotopes*. **Congrès de l'école doctorale 251 (2021)**.

Ecoles d'été et formations :

1. Ecole d'été '*DySOM: advancing the analysis of dynamic soil organic matter interfaces across scales under global changes*', 20-25 oct 2021. Munich, Chair of soil science.
2. Formation CNRS, Aspects fondamentaux de la microscopie électronique en transmission. 25-29 nov 2019. Institut de chimie et des matériaux Paris-Est-UMR 7182.

# Résumé

Mots clés : sol ; carbone ; matières organiques ; associations organo-minérales ; coprécipitation ; chimimétrie ; isotopes du C ; MET ; STXM

Maintenir le taux de matières organiques des sols - et donc de C - est un enjeu pour la sécurité alimentaire et le climat. La stabilisation du C des sols est principalement assurée par l'association entre matières organiques et phases minérales. Cette association peut être réalisée par un mécanisme quantitativement important de coprécipitation qui lie les composés organiques avec des éléments issus de l'altération minérale (principalement Fe, Si, Al). Les coprécipités, ayant des éléments inorganiques amorphes, sont nommées nanoCLICs (Nanosized Coprecipitates of inorganic oLigomers with organiCs). La caractérisation des mécanismes contrôlant la dynamique de formation, le maintien ou la déstabilisation des nanoCLICs est incomplète à ce jour. Ainsi, l'objectif de cette thèse est de caractériser ces mécanismes dans les situations de stockage et de déstockage de C, en couplant des approches de chimimétrie (IR, DRX), isotopie ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ), microscopie électronique (MEB-FEG-EDX, STEM-EDX et MET-EELS), spectroscopie X (STXM) et respirométrie. Dans le cas d'une transition forêt-culture d'un andosol, les résultats montrent que les nanoCLICs sont déstructurés, expliquant une fraction importante de la perte en C. A l'inverse, en situation de gain de C (dans un andosol), l'apport de fertilisants organiques ne semble pas promouvoir la coprécipitation de nanoCLICs. L'imagerie aux échelles fines montrent que la nature et la structure des nanoCLICs est caractérisée par un mélange aux proportions variables de C, Al, Si (et Fe dans une moindre mesure) jusqu'aux résolutions de 10 nm. Les interactions aux échelles moléculaires sont assurées par des liaisons covalentes entre des cations métalliques et des fonctions organiques ainsi que par piégeage de molécules. Enfin, les nanoCLICs mis en interaction avec le vivant montrent que le C y est majoritairement protégé de la minéralisation microbienne, mais la simulation d'injection d'exsudats racinaires tend à le déstabiliser.



# Abstract

Keywords: soil; carbon; organic matter; organo-mineral associations; co-precipitation; chemometrics; C isotopes; TEM; STXM

Maintaining organic matter content in soils - and hence C content - is essential to global food security and to mitigating the effects of climate change. Soil C stabilization is mainly provided by the association between organic matter and mineral phases. This association can be achieved by a quantitatively important mechanism of co-precipitation that binds organic compounds with elements derived from mineral weathering (mainly Fe, Si, Al). The coprecipitates, having amorphous inorganic elements, are named nanoCLICs (Nanosized Coprecipitates of inorganic oLlgomers with organiCs). The characterization of the mechanisms controlling the dynamics of formation, maintenance, or destabilization of nanoCLICs is incomplete to date. Thus, the objective of this thesis is to characterize these mechanisms in a context of C storage and destabilization, by coupling chemometrics (IR, DRX), isotopy ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ), electron microscopy (SEM-FEG-EDX, STEM-EDX and MET-EELS), X-ray spectroscopy (STXM) and respirometry approaches. In the case of a forest-to-crop transition in an andosol, the results show that the nanoCLICs are disrupted, explaining a significant part of the C loss. Conversely, in a C gain situation (in an andosol), organic fertilizer input does not appear to promote coprecipitation of nanoCLICs. Fine scale imaging shows that the nature and structure of nanoCLICs is characterized by a mixture of variable proportions of C, Al, Si (and Fe to a lesser extent) down to 10 nm resolutions. Interactions at molecular scales are ensured by covalent bonds between metal cations and organic functions as well as by molecular trapping. Finally, nanoCLICs interacting with living organisms show that C is mostly protected from microbial mineralization, but the simulation of root exudates additions tends to destabilize it.



# Remerciements

Mes remerciements vont, tout d'abord, aux membres du Jury qui ont accepté d'évaluer mon travail : **Claire Chenu, Marco Keiluweit, Delphine Derrien, Pierre Barré et Jérôme Rose.**

Un immense merci à **Isabelle Basile-Doelsch** qui m'a soutenue depuis de nombreuses années et transmis sa passion pour le gloubi-boulga organo-minéral. Merci pour ta patience et ta bienveillance.

Un grand merci à **Antoine Versini** qui m'a aussi soutenue depuis de nombreuses années et transmis sa passion pour l'apport de matières odorantes aux sols. Merci pour ton enthousiasme et ta vision à plus grande échelle.

Un grand merci à mes encadrants 'd'un peu plus loin' mais toujours disponibles : **Emmanuel Doelsch, Clément Levard, Samuel Legros et Christine Hatté.**

Merci à **Jérôme Balesdent** qui a suivi le début de ces travaux de thèse.

Merci à l'équipe 'nano-sols' composée de **Solène Quero, Nithavong Cam, Baptiste Hulin, Tom Girard et Sarah Wagon.**

Merci aux membres de mon comité de thèse qui ont suivi l'évolution de ce travail au cours de ces trois dernières années : **Thiphaine Chevallier, Frederic Rees, Sébastien Fontaine et Anne Alexandre.** Merci pour votre écoute et vos conseils.

Merci à toute l'équipe **Environnement Durable** et l'équipe **Recyclage et Risque** pour m'avoir permis de réaliser ce doctorat dans la bonne humeur et la bienveillance. Je remercie plus particulièrement **Adrien Duvivier, Marie-Laure Pons, Danielle Slomberg, Sebastien Benizri, Vladimir Vidal, Perrine Chaurand, Daniel Borschneck et Laurent Thuries** qui m'ont épaulé et aidé durant ces années.

Merci aux personnes qui ont contribué aux résultats et interprétations scientifiques de cette thèse : **Claire Chevassus-Rosset, Mélanie Montes, Loïs Lachowicz, Adrien Boulineau, Romain Soulas, François Saint-Antonin, Sufal Swaraj, Stefan Stanescu, Jeff Baldock, Ryan Farquharson, Steve Szarvas, Nathalie Dupuy, Sandrine Amat, Nicolas Brouilly et Andrea Campos.**

Merci aux personnes qui contribuent au bon fonctionnement du CEREGE, du CIRAD et de l'école doctorale quotidiennement et merci spécifiquement à **Didier Zevaco, Sylvie Defreitas, Brigitte Mayor, Sylvie Brochard et Isabelle Hammad.**

Merci aux **non-permanents ou étoiles montantes** du CEREGE, qui font de ces années une expérience enthousiasmante et amusante !

Enfin, merci aux personnes qui m'ont soutenue dans ma vie personnelle durant ces années de doctorat.

A Aix-en-Provence, le 24/01/2022



# Table des matières

<b>Affidavit</b> .....	<b>- 2 -</b>
<b>Affidavit</b> .....	<b>- 4 -</b>
<b>Liste de publications et participation aux conférences</b> .....	<b>- 6 -</b>
<b>Résumé</b> .....	<b>- 8 -</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>- 10 -</b>
<b>Remerciements</b> .....	<b>- 12 -</b>
<b>Table des matières</b> .....	<b>- 14 -</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>- 20 -</b>
<b>1. Chapitre 1 : Introduction générale</b> .....	<b>- 22 -</b>
<b>1.1. Préambule</b> .....	<b>- 22 -</b>
<b>1.2. État de l'art</b> .....	<b>- 23 -</b>
1.2.1. Importance et enjeux du cycle des matières organiques des sols.....	- 23 -
1.2.1.1. Importance des matières organiques des sols.....	- 23 -
1.2.1.2. Un stock de C dynamique .....	- 25 -
1.2.1.3. Enjeux des matières organiques des sols.....	- 25 -
1.2.2. La stabilisation du C du sol.....	- 27 -
1.2.2.1. Un continuum de biotransformations et de stabilisations .....	- 27 -
1.2.2.2. Conceptualisation du continuum en MO particulières (POM) et associées aux minéraux (MAOM) .....	- 28 -
1.2.2.3. Une stabilisation des MO en interaction avec le vivant ( <i>priming effect</i> ).....	- 28 -
1.2.3. Les matières organiques associées aux phases minérales (MAOM) .....	- 30 -
1.2.3.1. Importance de l'altération minérale.....	- 30 -
1.2.3.2. Conceptualisation des MAOM .....	- 31 -
1.2.3.3. Observations des MAOM dans les sols : focus sur la coprécipitation.....	- 32 -
<b>1.3. Objectifs de thèse</b> .....	<b>- 36 -</b>
<b>1.4. Références bibliographiques</b> .....	<b>- 37 -</b>
<b>2. Chapitre 2 : Caractérisation de coprécipités d'andosol avant et après une mise en culture.</b> .....	<b>- 42 -</b>
<b>2.1. Introduction</b> .....	<b>- 43 -</b>
<b>2.2. Matériels et méthodes</b> .....	<b>- 45 -</b>
2.2.1. Site expérimental, échantillonnage et fractionnement des sols .....	- 45 -
2.2.2. Mesure de C et calcul du stock de C .....	- 45 -
2.2.3. Mesures des paramètres physico-chimiques des sols.....	- 46 -
2.2.4. Caractérisation minérale et organique.....	- 47 -
2.2.4.1. Caractérisation minérale par diffraction des rayons X (DRX) .....	- 47 -
2.2.4.2. Caractérisation minérale et organique par moyen infra-rouge (MIR) .....	- 48 -
2.2.5. Analyses chimiométriques des signaux DRX et MIR .....	- 48 -
2.2.5.1. Modélisation PLSR des signaux MIR .....	- 48 -
2.2.5.2. Corrélation des signaux MIR et DRX ( <i>2D synchronous hetero correlation spectra</i> ) .....	- 49 -

2.2.6.	Imagerie et cartographie chimique .....	- 49 -
<b>2.3.</b>	<b>Résultats et discussion .....</b>	<b>- 50 -</b>
2.3.1.	Perturbations physico-chimiques du sol <i>bulk</i> .....	- 50 -
2.3.2.	Une perte de C coprécipité avec de l'Al, du Si et du Fe .....	- 53 -
2.3.3.	Analyse de l'ordre minéralogique des coprécipités.....	- 59 -
2.3.4.	Analyse des liaisons organiques et inorganiques des coprécipités .....	- 61 -
2.3.5.	Des coprécipités nanoCLICs ? .....	- 65 -
2.3.6.	Une fragilisation de C coprécipité à la suite d'une mise en culture .....	- 67 -
<b>2.4.</b>	<b>Conclusion .....</b>	<b>- 68 -</b>
<b>2.5.</b>	<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>- 68 -</b>
<b>2.6.</b>	<b>Annexes .....</b>	<b>- 74 -</b>
<b>3.</b>	<b>Chapitre 3 : Quantification de C issu de fertilisants organiques et impact sur le C du sol.....</b>	<b>- 90 -</b>
<b>3A.</b>	<b>Les isotopes stables peuvent-ils quantifier le C issu des fertilisants organiques ?</b>	<b>- 92 -</b>
	<i>Can stable isotopes quantify soil carbon build-up from organic fertilizers?</i> .....	- 92 -
<b>3.1.</b>	<b>Introduction.....</b>	<b>- 93 -</b>
<b>3.2.</b>	<b>Material and methods .....</b>	<b>- 98 -</b>
3.2.1.	Study sites.....	- 98 -
3.2.2.	Experimental design .....	- 98 -
3.2.3.	Soils and organic fertilizers sampling.....	- 98 -
3.2.4.	C analyses and C stock calculations .....	- 99 -
3.2.5.	$\delta^{13}\text{C}$ analysis and $\Delta\delta^{13}\text{C}$ calculations .....	- 99 -
3.2.6.	Estimation of OF-C proportions in amended soils .....	- 99 -
3.2.6.1.	Differential method .....	- 99 -
3.2.6.2.	Synchronic isotope method .....	- 100 -
3.2.6.3.	Asynchronic isotope method .....	- 100 -
3.2.7.	Statistical analysis and overcoming block effect .....	- 100 -
3.2.8.	Sensitivity analysis of the isotope mixing equation.....	- 101 -
<b>3.3.</b>	<b>Results .....</b>	<b>- 101 -</b>
3.3.1.	Control soil C content and $\delta^{13}\text{C}$ .....	- 101 -
3.3.2.	Organic fertilizer $\delta^{13}\text{C}$ .....	- 102 -
3.3.3.	$\delta^{13}\text{C}$ and carbon content of OF-amended soils.....	- 103 -
3.3.4.	Quantification of soil OF-C via the differential, isotope synchronic and isotope asynchronic methods.....	- 106 -
<b>3.4.</b>	<b>Discussion .....</b>	<b>- 108 -</b>
3.4.1.	Relevance of the 3 methods for quantifying OF contribution to SOM .....	- 108 -
3.4.1.1.	Isotope methods focusing on the direct effect of OFs on the SOM.....	- 108 -
3.4.1.2.	Synchronic isotope method taking into consideration SOM evolution in the control.....	- 109 -
3.4.2.	Resolution and sensitivity of the OF isotope method .....	- 109 -
3.4.3.	An isotope method to study the factor controlling soil OF-C sequestration.....	- 111 -
<b>3.5.</b>	<b>Conclusion .....</b>	<b>- 112 -</b>
<b>3.6.</b>	<b>References .....</b>	<b>- 112 -</b>
<b>3.7.</b>	<b>Acknowledgements .....</b>	<b>- 116 -</b>
<b>3.8.</b>	<b>Supplementary information .....</b>	<b>- 117 -</b>

**3B. Quantification de C issu de fertilisants organiques et impact sur les matières organiques endogènes du sol..... - 122 -**

<b>3.9. Introduction.....</b>	<b>- 123 -</b>
<b>3.10. Matériels et Méthodes .....</b>	<b>- 125 -</b>
3.10.1. Description des essais.....	- 125 -
3.10.2. Échantillonnage des sols et des fertilisants organiques .....	- 125 -
3.10.3. Fractionnement des sols et des fertilisants organiques .....	- 125 -
3.10.4. Analyses physico-chimiques du sol <i>bulk</i> .....	- 125 -
3.10.5. Analyses minéralogiques .....	- 126 -
3.10.6. Analyses de C et <sup>13</sup> C des sols et des fertilisants organiques .....	- 126 -
3.10.7. Calcul de proportion du C dérivé des fertilisants organiques (OF-C) et propagation des erreurs.....	- 127 -
3.10.7.1. Calcul de la proportion OF-C par la méthode soustractive.....	- 127 -
3.10.7.2. Calcul de la proportion OF-C par la méthode isotopique .....	- 127 -
3.10.7.3. Calcul de la quantité et du taux de recouvrement du OF-C .....	- 128 -
<b>3.11. Résultats.....</b>	<b>- 129 -</b>
3.11.1. Caractérisation des fertilisants organiques et des biomasses aériennes durant les essais agronomiques.....	- 129 -
3.11.2. Analyses des sols après 15 à 16 ans d'apports de fertilisants organiques .....	- 133 -
3.11.2.1. Analyses minéralogiques et physico-chimiques des sols.....	- 133 -
3.11.2.2. Analyses de la concentration en C et de $\delta^{13}\text{C}$ des sols .....	- 135 -
3.11.3. Analyses des fractions de sols après 15 à 16 ans d'apports de fertilisants organiques .....	- 137 -
3.11.3.1. Recouvrement massique des fractions.....	- 137 -
3.11.3.2. Minéralogie des fractions de sols .....	- 138 -
3.11.3.1. Analyses de la concentration en C et de $\delta^{13}\text{C}$ des fractions de sols .....	- 139 -
<b>3.12. Discussion.....</b>	<b>- 142 -</b>
3.12.1. Pertinence du traçage isotopique sur les deux sols.....	- 142 -
3.12.2. Une détection de OF-C en profondeur, mais pas de stockage additionnel .....	- 144 -
3.12.3. Dynamique des POM jusqu'à 1 m de profondeur .....	- 145 -
3.12.4. Dynamique de la fraction < 20 $\mu\text{m}$ .....	- 145 -
<b>3.13. Premières conclusions et perspectives du projet AddSOC-dt .....</b>	<b>- 146 -</b>
<b>3.14. Références bibliographiques .....</b>	<b>- 147 -</b>
<b>3.15. Annexes.....</b>	<b>- 152 -</b>

**4. Chapitre 4 : Caractérisation de coprécipités aux nano-échelles..... - 160 -**  
**4A. Caractérisation de coprécipités naturels aux nano-échelles : cas d'un andosol en forêt et cultivé .....**  
**- 162 -**

<b>4.1. Introduction.....</b>	<b>- 163 -</b>
<b>4.2. Matériels et méthodes.....</b>	<b>- 165 -</b>
4.2.1. Échantillonnage .....	- 165 -
4.2.2. Fractionnement des sols.....	- 165 -
4.2.3. Minéralogie et dosage C des fractions de sols.....	- 166 -
4.2.4. Imagerie et distribution spatiale des éléments par TEM, STEM-EDX et STEM-EELS .....	- 166 -
<b>4.3. Résultats.....</b>	<b>- 168 -</b>
4.3.1. Caractérisation des fractions isolées (dosage C et minéralogie par DRX) .....	- 168 -
4.3.2. Imagerie et distribution spatiale des éléments par cartographies chimiques.....	- 169 -

4.3.2.1.	Analyses des fractions fines du sol en forêt.....	- 169 -
4.3.2.2.	Analyses des fractions fines du sol cultivé .....	- 175 -
4.3.2.3.	Analyses de zones comportant des minéraux .....	- 177 -
<b>4.4.</b>	<b>Discussion.....</b>	<b>- 179 -</b>
4.4.1.	Une diversité de nano-phases .....	- 179 -
4.4.2.	Une stabilisation du C sous forme de coprécipités.....	- 179 -
4.4.3.	Une possible adsorption de coprécipités sur des minéraux ? .....	- 181 -
4.4.4.	Une détection de C coprécipité dans le sol en forêt et cultivé.....	- 182 -
<b>4.5.</b>	<b>Conclusion .....</b>	<b>- 182 -</b>
<b>4.6.</b>	<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>- 183 -</b>
<b>4.7.</b>	<b>Annexes.....</b>	<b>- 186 -</b>
<b>4B. Caractérisation de coprécipités-nanoCLICs par approches spectroscopiques aux rayons X.....- 196 -</b>		
<b>4.8.</b>	<b>Introduction.....</b>	<b>- 197 -</b>
<b>4.9.</b>	<b>Matériels et méthodes.....</b>	<b>- 198 -</b>
4.9.1.	Échantillonnage de l'andosol et séparation des nanoCLICs naturels .....	- 198 -
4.9.2.	Formation des nanoCLICs synthétiques.....	- 198 -
4.9.3.	Caractérisation minéralogique et chimique des nanoCLICs .....	- 199 -
4.9.4.	Caractérisation de la spéciation et cartographie du C, Fe et Al des nanoCLICs.....	- 200 -
<b>4.10.</b>	<b>Résultats et discussion .....</b>	<b>- 201 -</b>
4.10.1.	Caractérisation des nanoCLICs naturels .....	- 201 -
4.10.1.1.	Caractérisation chimique et minéralogique des fractions fines d'andosols .....	- 201 -
4.10.1.2.	Analyse de la spéciation du C des nanoCLICs naturels .....	- 203 -
4.10.2.	Caractérisation des nanoCLICs synthétiques .....	- 208 -
4.10.2.1.	Caractérisation chimique et minéralogique des nanoCLICs synthétiques.....	- 208 -
4.10.2.2.	Analyse de la spéciation du C des nanoCLICs synthétiques.....	- 211 -
4.10.3.	Influences des éléments inorganiques sur la spéciation du C .....	- 213 -
4.10.3.1.	Des ressemblances entre nanoCLICs naturels et synthétiques .....	- 213 -
4.10.3.2.	Nature des interactions entre les MO et les éléments inorganiques .....	- 213 -
<b>4.11.</b>	<b>Conclusion .....</b>	<b>- 215 -</b>
<b>4.12.</b>	<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>- 215 -</b>
<b>5. Chapitre 5 : Étude des interactions entre coprécipités-nanoCLICs, exsudats racinaires et micro-organismes.....- 220 -</b>		
<b>5.1.</b>	<b>Introduction.....</b>	<b>- 221 -</b>
<b>5.2.</b>	<b>Matériels et méthodes.....</b>	<b>- 222 -</b>
5.2.1.	Échantillonnage de l'andosol et séparation des nanoCLICs naturels .....	- 222 -
5.2.2.	Formation des nanoCLICs synthétiques.....	- 223 -
5.2.3.	Caractérisation des nanoCLICs synthétiques et naturels.....	- 224 -
5.2.4.	Incubation .....	- 224 -
5.2.4.1.	Conception des pots .....	- 224 -
5.2.4.2.	Modalités d'incubations .....	- 225 -
5.2.4.3.	Temporalité des mesures de CO <sub>2</sub> , aérations et maintien de l'humidité .....	- 226 -
5.2.4.4.	Calibration du respiromètre et calcul de la quantité de C minéralisé cumulée.....	- 227 -
5.2.5.	Calculs de la quantité de C minéralisé issus des coprécipités .....	- 228 -

<b>5.3. Résultats</b> .....	<b>- 229 -</b>
5.3.1. Caractérisation des coprécipités incubés .....	- 229 -
5.3.1.1. Caractérisation des nanoCLICs naturels.....	- 229 -
5.3.1.2. Caractérisation des nanoCLICs synthétiques .....	- 229 -
5.3.2. Incubations .....	- 235 -
5.3.2.1. Contrôles de minéralisation.....	- 235 -
5.3.2.2. Minéralisation de la DOPA, des nanoCLICs naturels et synthétiques .....	- 235 -
5.3.2.3. Minéralisation des nanoCLICs naturels et synthétiques avec des ajouts d'acide oxalique.....	- 236 -
<b>5.4. Discussion</b> .....	<b>- 239 -</b>
5.4.1. Les coprécipités-nanoCLICs protègent le C de la minéralisation .....	- 239 -
5.4.1.1. Une protection du C de la minéralisation .....	- 239 -
5.4.1.2. Une protection influencée par les éléments inorganiques coprécipités ? .....	- 240 -
5.4.2. Les coprécipités-nanoCLICs sujet au <i>priming effect</i> .....	- 241 -
5.4.3. Enjeux de la dynamique des coprécipités-nanoCLICs.....	- 242 -
<b>5.5. Conclusion</b> .....	<b>- 243 -</b>
<b>5.6. Références bibliographiques</b> .....	<b>- 244 -</b>
<b>5.7. Annexes</b> .....	<b>- 247 -</b>
<b>6. Synthèse, conclusions et perspectives de recherches</b> .....	<b>- 254 -</b>
6.1. La nature des coprécipités .....	- 254 -
6.2. Fragilisation/déstructuration des coprécipités .....	- 255 -
6.3. L'apport de fertilisants organiques peut-il former des coprécipités ?.....	- 255 -
6.4. Références bibliographiques .....	- 258 -



# Liste des abréviations

Abréviations thématiques :

- **MO** - Matière(s) Organique(s)
- **POM** - Matière(s) Organique(s) Particulaire(s)
- **MAOM** - Matière(s) Organique(s) Associée(s) aux Minéraux
- **nanoCLICs** - Coprécipités de taille nanométrique d'oligomères inorganiques avec des molécules organiques (« *NANOsized Coprecipitates of inorganic oLlgomers with organiCS* » définit par Tamrat et al., 2019)
- **ITM** - *Imogolite type matériel*
- **OF** - Fertilisants Organiques
- **OF-C** - C issu de des Fertilisants Organiques
- **Inital-C** - C du sol Initialement présent avant les apports de fertilisants organiques
- **Végétation-C** - C issu de la Végétation

Autres abréviations :

- **AOD** - Oxalate d'ammonium-acide oxalique (Tamm, 1922)
- **DCB** - Dithionite-Citrate Bicarbonate (Mehra and Jackson, 1958)
- **AO**- Acide oxalique
- **DRX** - Diffraction Des Rayons X (*X-ray diffraction*)
- **MIR** - Spectroscopie du moyen infrarouge (*Middle Infra-Red spectroscopy*)
- **STXM** - Microscopie de rayons X à balayage en transmission (*Scanning transmission X-ray microscopy*)
- **MET ou TEM**- Microscopie Electronique en Transmission (*Transmission Electron Microscopy*)
- **MEB ou SEM** - Microscopie Electronique à Balayage (*Scanning Electron Microscopy*)
- **EDX** - Spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (*Energy-dispersive X-ray Spectroscopy*)
- **EELS** - Spectroscopie de perte d'énergie des électrons (*Electron Energy Loss Spectroscopy*)



# 1. Chapitre 1 : Introduction générale

## 1.1. Préambule

Les sols sont un réservoir de carbone, trois fois plus important que l'atmosphère, sous forme de matières organiques. Ces matières organiques proviennent des végétaux et des animaux et contiennent aussi de l'azote, du phosphore, de l'oxygène et du soufre. Ces matières organiques rendent des **services écosystémiques** car elles sont un réservoir d'éléments nutritifs pour les cultures et un substrat énergétique pour les micro-organismes. Elles participent aussi à la bonne structuration des sols et à la rétention de l'eau. Ainsi, maintenir un taux important de matières organiques dans les sols est un enjeu sociétal. C'est aussi un enjeu climatique par le maintien du C dans le sol, empêchant/ralentissant sa minéralisation, notamment sous forme de CO<sub>2</sub>. Cette protection de la minéralisation est appelée **stabilisation du C**. Cette stabilisation est en grande partie assurée par des associations entre les matières organiques et les éléments issus de l'altération minérale ou les minéraux, appelées les **associations organo-minérales**.

Cette thèse s'inscrit dans une démarche **de compréhension de la formation, du maintien et de la déstabilisation des associations organo-minérales**, afin de mieux appréhender la stabilisation du C des sols. Cette thèse se focalise sur l'une de ces associations organo-minérales : **les coprécipités**.

Cette thèse a été co-financée par le CIRAD et la Région SUD. Elle a été réalisée dans l'équipe **environnement durable du CEREGE** et l'équipe **recyclage et risque du CIRAD**. Cette thèse s'inscrit dans le projet ANR nanoSoilC (2017-2022) mené par Isabelle Basile-Doelsch.

Le mémoire est structuré comme suit : l'introduction générale comporte un court **état de l'art** et présente les **objectifs** scientifiques détaillés. Les travaux de recherches sont ensuite présentés en **4 grands chapitres** : (2) l'étude du devenir des coprécipités dans un sol soumis à un changement d'usage associé à une perte de C ; (3) la quantification de C issu de fertilisants organiques et la détection/quantification de l'impact sur les matières organiques endogènes ; (4) l'étude de la structure des coprécipités et des mécanismes d'associations dans les coprécipités et (5) l'étude de la stabilité de coprécipités en interaction avec le vivant. Enfin, une **conclusion générale** permet d'exploiter les résultats acquis sur les coprécipités étudiés.

## 1.2. État de l'art

### 1.2.1. Importance et enjeux du cycle des matières organiques des sols

#### 1.2.1.1. Importance des matières organiques des sols

Les sols sont composés de matière organique, de minéraux, d'eau et d'air. La répartition entre la masse de matières organiques (MO) et de minéraux est d'environ **5 % de MO et de 95 % de minéraux** (Van-Camp et al., 2004). Les MO sont composées d'éléments tels que le C, N, P, O et S. Malgré la faible masse de MO dans les sols, leurs présences sur une majeure partie des terres émergées en font un réservoir de C d'environ 1900 à 2500 Gt C, soit le troisième réservoir de C organique après les océans et les ressources fossiles (Mackenzie and Lerman, 2006; GIEC, 2014). Ces MO du sol sont composées à **95 % de MO mortes et à 5 % de MO vivantes** (Figure 2 ; Basile-Doelsch et al., 2020). Les MO mortes sont à 60-99 % composées de molécules organiques issues des micro-organismes et à 1-40 % de MO particulières issues des résidus de plantes. Les 5% de MO vivantes dans les sols sont composées de racines, de la faune (e.g. vers de terre) et des micro-organismes (bactéries et champignons).

Ce stock de MO -de donc de C- des sols n'est pas inerte, il forme un cycle avec des puits de C dus aux apports de MO aux sols (Figure 1; Calvet et al., 2011), appelé **production primaire**, issus de la restitution des biomasses aériennes et racinaires, de la rhizo-déposition, de la nécromasse ou encore des apports de MO exogènes tels que des fertilisants organiques. Ces MO du sol sont aussi une source de CO<sub>2</sub> et autre gaz à effet de serre *via* la **biodégradation et la minéralisation** de ces MO par la faune et les micro-organismes. Le temps de résidence du C des sols peut varier suivant une diversité de facteurs (nature des MO, pH...) et d'interactions (avec la faune, les micro-organismes, les plantes, les minéraux, etc.). De plus, les sols ont une épaisseur variable. Les MO des horizons supérieurs peuvent être transportées en profondeur (**par la lixiviation, l'activité biologique**, etc.). À l'échelle du paysage ou de l'usage des sols, les MO peuvent être perdues par l'**exportation** des récoltes, ou bien par l'**érosion** (induite par le relief et/ou à la suite de fortes pluies). Comme explicité dans le préambule, les MO rendent des **services écosystémiques** par le fait d'être un réservoir d'éléments nutritifs pour les cultures et un substrat énergétique pour les micro-organismes. Mais aussi parce qu'elles participent à la bonne structuration des sols et à la rétention de l'eau.

Ainsi, maintenir un taux important de MO dans les sols est un enjeu climatique et un enjeu sociétal.

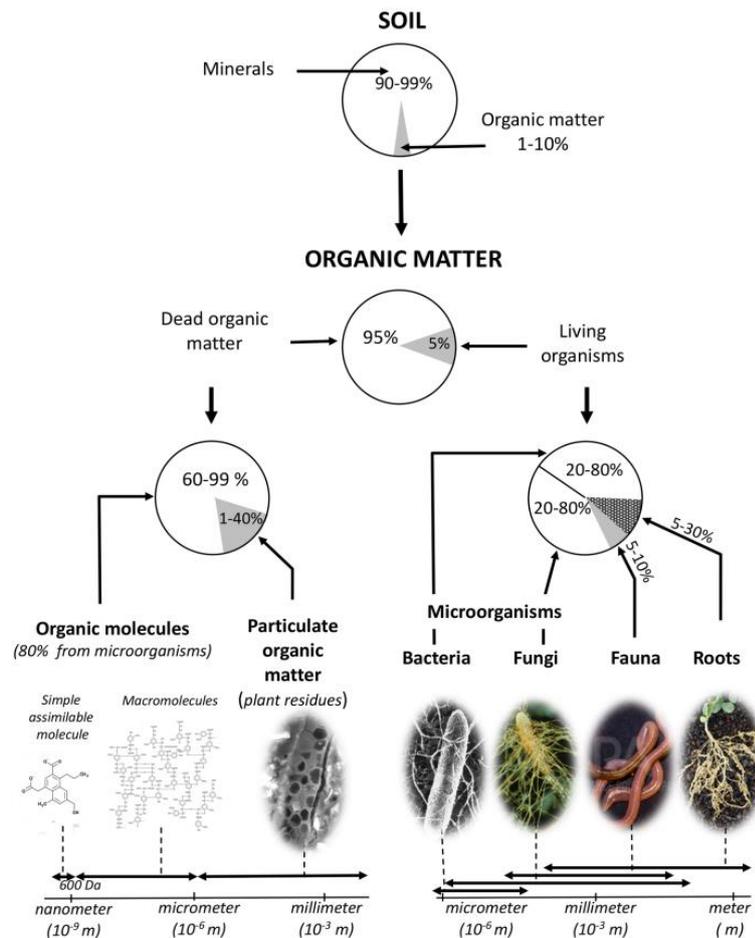


Figure 2. Nature, taille et proportions indicatives des matières organiques des sols, inférieures à 2 mm issus de Basile-Doelsch et al. (2020) adapté de Calvet et al. (2011).

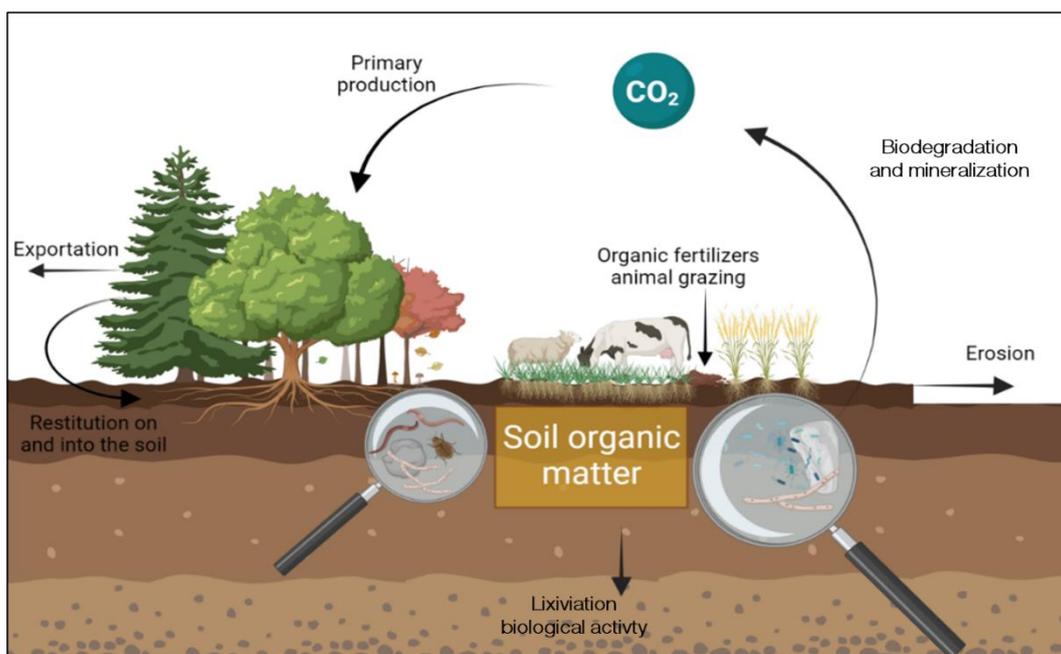


Figure 1. Cycle du C des sols. Inspiré de diverses introductions aux sciences du sol et notamment de Calvet, Chenu, et Houot, *Matières organiques des sols*. Créé avec biorender.com.

### 1.2.1.2. Un stock de C dynamique

L'âge moyen des MO des sols est de l'ordre de 4800 ans (tous sols confondus sur 1 m ; Shi et al., 2020). Mais cet âge est différent en fonction de la profondeur du sol (Figure 3, Balesdent et al., 2018). Le temps de renouvellement du C est plus rapide en surface qu'en profondeur. Cette dynamique est le résultat des apports de MO, qui sont majoritaires **en surface ou sur le 0-30 cm** (par la litière aérienne, racinaire, les exsudats racinaires, etc.). Le stock de C en surface est donc généralement plus important qu'en profondeur. Mais comme abordé précédemment, ces MO peuvent être transportées en profondeur (par la lixiviation ou encore l'activité biologique). Les **horizons profonds** ne sont donc pas négligeables puisque le stock de C de l'horizon 0-30 cm est équivalent au stock de C de l'horizon 30-100 cm (Jobbágy and Jackson, 2000; Hiederer and Köchy, 2011; Balesdent et al., 2018).

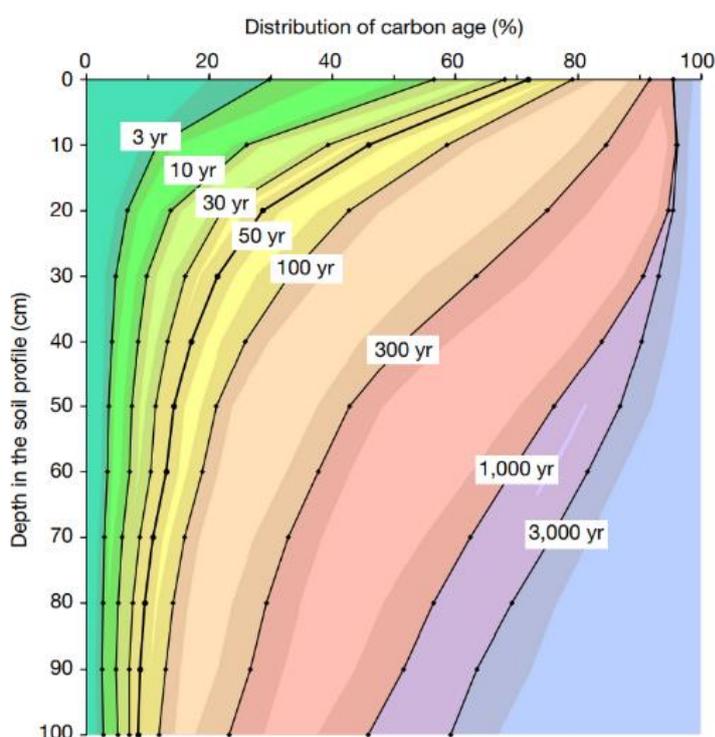


Figure 3. Méta-analyse de la distribution de l'âge du carbone de 55 profils de sols tropicaux de forêts et prairies (Balesdent et al., 2018).

### 1.2.1.3. Enjeux des matières organiques des sols

À l'échelle globale, **l'Homme impacte négativement** les teneurs en MO des sols notamment par le changement d'usage des terres (conversions de forêts et prairies naturelles en pâturages et cultures ; IPCC 2019). Cet impact est variable en fonction du type d'agriculture pratiqué et est globalement plus important lors d'une agriculture intensive (IPCC 2019). Cet impact peut être mesuré par le stock de C du sol. Lors d'une transition d'un sol en forêt ou en prairie à un sol cultivé, le stock de C peut diminuer de 40 à 60 % (Figure 4; Guo and Gifford, 2002; IPCC 2019). À l'inverse, lors d'une transition d'un sol cultivé en forêt ou en prairie, le stock de C peut augmenter de 20 à 60 % (Guo and

Gifford, 2002). Aussi, le **dérèglement climatique** peut avoir un impact négatif sur le cycle des MO par l'augmentation des épisodes de sécheresse et des pluies intenses entraînant de l'érosion et un bouleversement des conditions de minéralisation du C (fonte du permafrost, dégradation des tourbières etc. ; IPCC 2019).

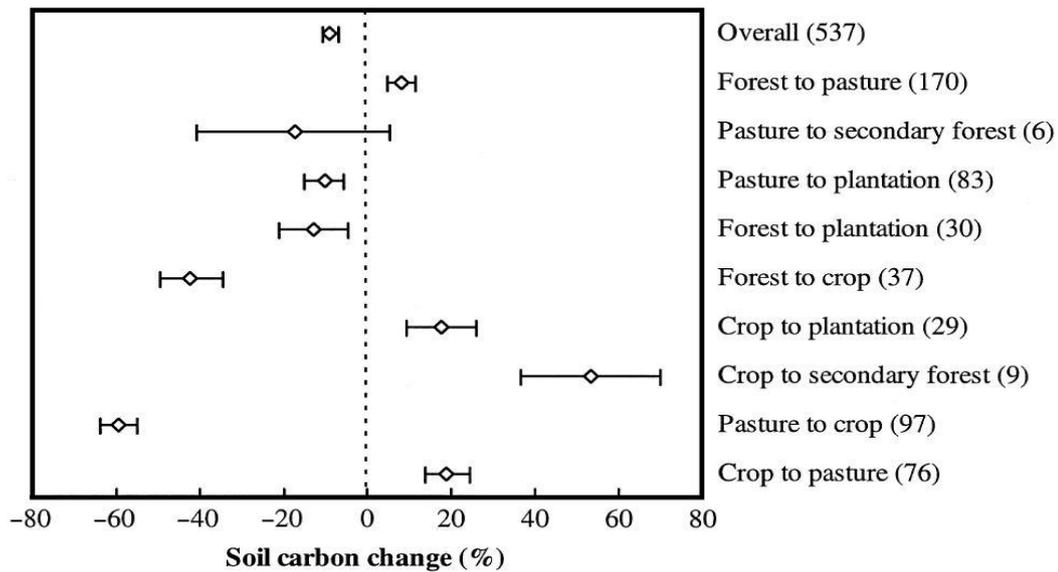


Figure 4. Méta-analyse des changements de stocks de C en réponse à un changement d'usage des terres par Guo and Gifford (2002).

Suite à ce constat, l'augmentation ou le **maintien des MO des sols cultivés est encouragé**, notamment *via* l'initiative gouvernementale 4p1000 (<https://4p1000.org/>; Soussana et al., 2019). Cette initiative vise à augmenter le taux de MO des sols cultivés à hauteur de 0.4 % par an afin d'augmenter la stabilisation du C, mais aussi afin d'assurer une sécurité alimentaire.

Cette **stabilisation** des MO est définie comme « *un ou des processus empêchant la biodégradation des composés. L'interaction entre le composé organique et les enzymes responsables de sa dégradation est empêchée, notamment en raison du piégeage de l'un ou l'autre au sein des minéraux, de l'association avec ces derniers ou avec d'autres composés organiques* » (Pellerin et al., 2020). Les sections suivantes font un court état de l'art des processus de stabilisation du C des sols.

## 1.2.2. La stabilisation du C du sol

### 1.2.2.1. Un continuum de biotransformations et de stabilisations

La MO est dégradée dans les sols par l'intermédiaire de la faune et des micro-organismes (bactéries et champignons ; Figure 5, Basile-Doelsch et al., 2020). Ces MO sont dégradées sous forme de particules puis de biopolymères jusqu'à former de simples molécules ou monomères organiques avant d'être minéralisées sous forme de CO<sub>2</sub>. Ainsi les MO sont **dégradées suivant un continuum**. Dans les sols, elles peuvent être de taille centimétrique à sub-nanométrique.

Durant ce continuum de dégradation, l'interaction des MO avec d'autres composants du sol peut empêcher ou ralentir cette dégradation. Cette **stabilisation peut aussi avoir lieu à différentes échelles**. Aux échelles centimétriques, les MO peuvent être piégées dans des agrégats (MO occluses). Aux échelles micro à nanométriques, les MO peuvent être associées à des minéraux ou aux produits de l'altération des minéraux (Lehmann and Kleber, 2015; Basile-Doelsch et al., 2020).

Par ce continuum de dégradation et la potentielle stabilisation de ces MO à diverses étapes de cette dégradation, la dynamique des MO du sol est difficile à appréhender.

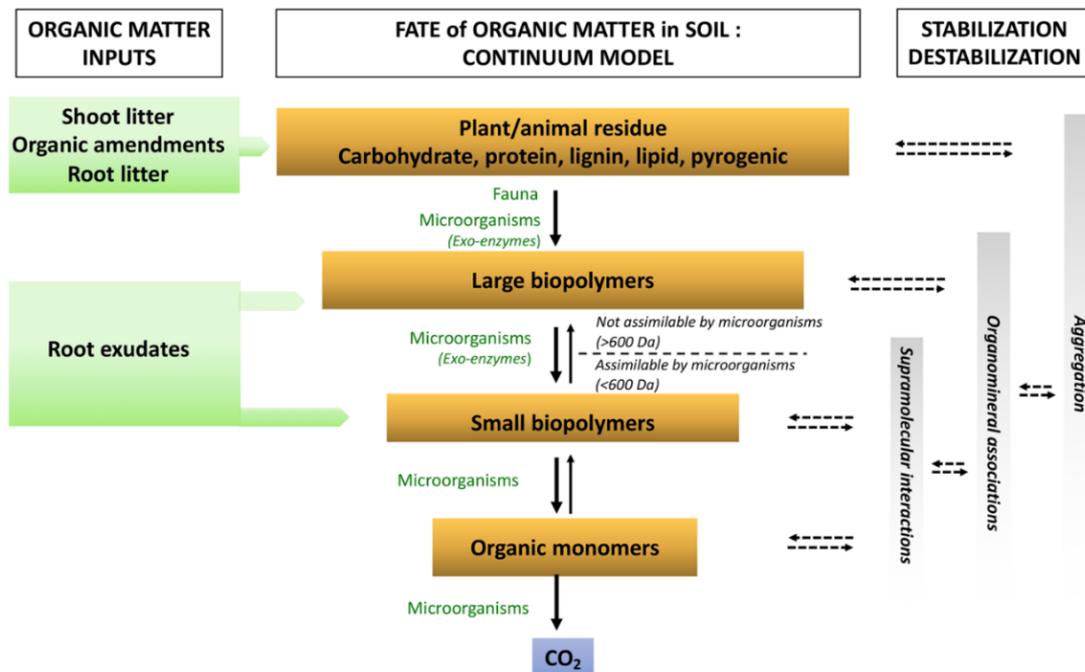


Figure 5. Représentation du modèle de continuum de biotransformations des MO du sol (issu de Basile-Doelsch et al., 2020, adapté de Lehman and Kleber, 2015).

### 1.2.2.2. Conceptualisation du continuum en MO particulières (POM) et associées aux minéraux (MAOM)

Afin d'appréhender la dynamique du C des sols, deux formes de C organique sont conceptualisées suivant un fractionnement par taille :

- (i) Les **matières organiques particulières (POM)** qui sont des objets d'une taille supérieure à 53 µm issus de fragments de matières organiques (Cotrufo et al., 2019). Ces fragments peuvent être issus de la litière aérienne et racinaire, de la nécromasse, etc., et sont donc chimiquement très variés. Ces POM ont un âge moyen du C assez court de l'ordre de quelques années à la centaine d'années (Trumbore et al., 1989; Bol et al., 2009; Feng et al., 2016).
- (ii) Les **matières organiques associées aux minéraux (MAOM)** ont une taille inférieure à 53 µm et sont généralement concentrées dans la fraction inférieure à 20 µm (Cotrufo et al., 2019; Lavalley et al., 2020). Les MAOM sont composées de molécules organiques diverses (e.g. polysaccharides, protéines, etc.) et ne semblent pas soumises à l'hypothèse d'une récalcitrance chimique (Schmidt et al., 2011). L'âge moyen des fractions MAOM est variable de la centaine d'années au millénaire (Trumbore et al., 1989; Bol et al., 2009; Feng et al., 2016; Shimada et al., 2022).

L'importance des POM et MAOM peut varier suivant les conditions pédoclimatiques, mais à l'échelle globale, les MAOM contribuent en grande partie aux C des sols en climat tempéré (Cotrufo et al., 2019) et tropical (Fujisaki et al., 2018). D'un point de vue d'une stabilisation du C, *c.-à-d. un ou des processus empêchant la biodégradation des composés*, les POM peuvent jouer un rôle lorsqu'elles sont occluses dans des agrégats ou bien par un rôle de pourvoyeur de MO (Witzgall et al., 2021), mais ce sont **les MAOM qui régissent principalement la stabilisation du C des sols**.

### 1.2.2.3. Une stabilisation des MO en interaction avec le vivant (*priming effect*)

La stabilisation des MO conçoit une inaccessibilité de ces dernières aux micro-organismes, mais aussi aux plantes. Les plantes peuvent induire un changement de minéralisation du C du sol par l'exsudation de molécules organiques, appelé ***priming effect induit par les plantes*** (Kuzyakov et al., 2000; Fontaine et al., 2003; Keiluweit et al., 2015; Bernard et al., 2022). Suivant le type de molécules organiques sécrétées, ces exsudats racinaires peuvent agir de deux manières : (i) par un **priming biotique** induisant une stimulation de la production enzymatique du compartiment microbien alors capable de minéraliser des OM auparavant inaccessibles (inaccessibilité physique ou énergétique ; Bernard et al., 2022). Ou bien (ii) par un **priming abiotique** induisant des changements de conditions de la solution du sol tel que le pH, Eh, etc. (des changements directs ou bien par stimulation des micro-organismes alors capables de changer les conditions de pH, Eh ; Bernard et al., 2022). Ces changements pourraient

fragiliser les MAOM et induire une déprotection/déstabilisation des MO alors accessibles aux micro-organismes.

Le **priming effect est analysé sur les MAOMs** (Figure 6 ; Jilling et al., 2021). Dans l'expérience de Jilling et al. (2021), l'ajout de glucose a augmenté la minéralisation du C issu des MAOM *via* un priming biotique. Alors que l'ajout de d'acide oxalique a augmenté la minéralisation du C issu des MAOM *via* un priming abiotique.

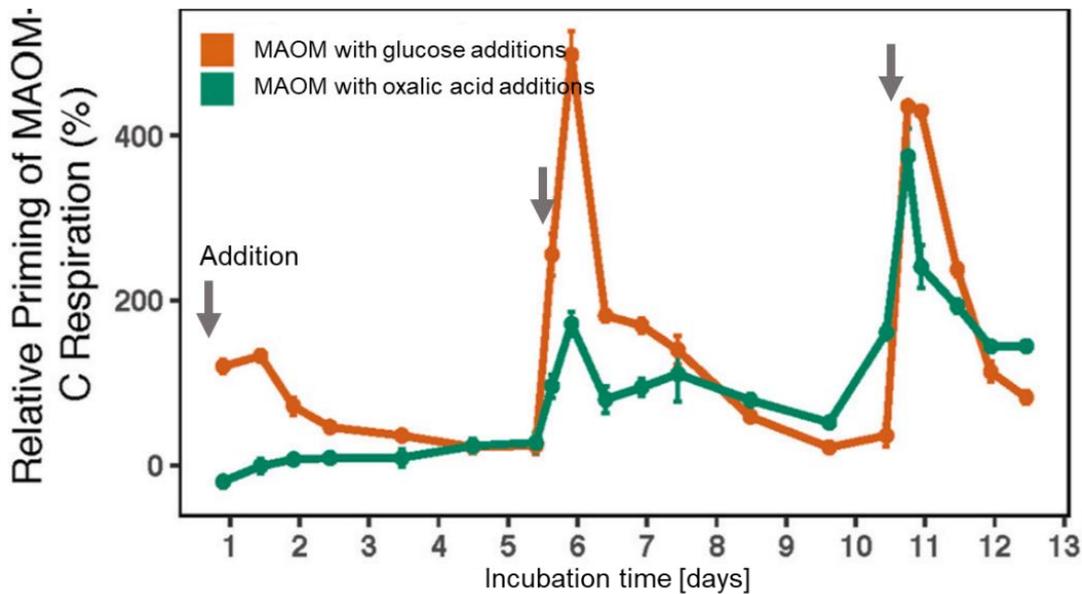


Figure 6. Pourcentage de C minéralisé issu des MAOM lors d'ajouts d'acide oxalique ou de glucose par Jilling et al., 2021. Exprimé en pourcentage de « *priming effect* ». Les ajouts ont été faits 3 fois et sont figurés par une flèche grise. Les MAOM sont issus de la fraction <math><20 \mu\text{m}</math> d'un Loam limoneux (Typic Edoaquoll). Le priming abiotique est testé avec des ajouts d'acide oxalique et le priming biotique avec des ajouts de glucose.

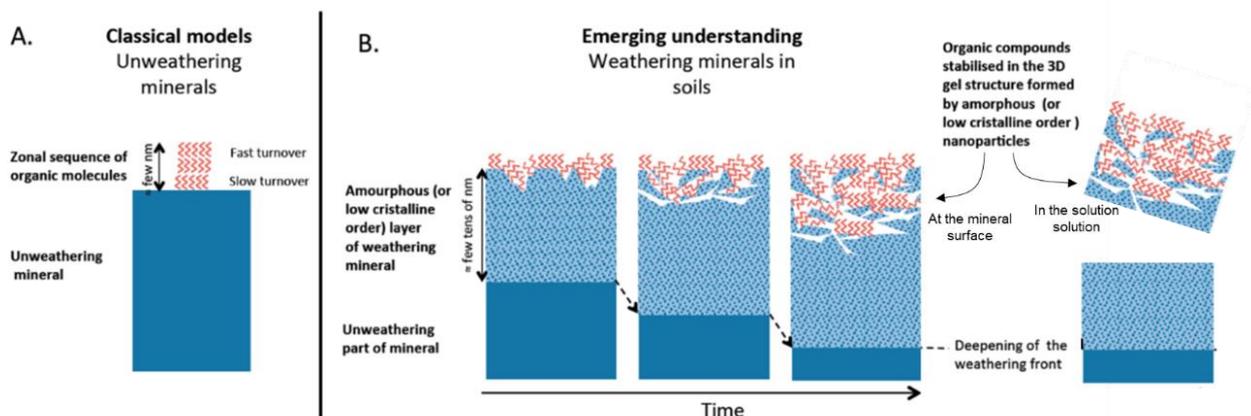
Pour conclure, les MAOM régissent la stabilisation du C des sols. Cette stabilisation doit être étudiée en interaction avec les micro-organismes et les plantes. Cependant les MAOM peuvent avoir diverses associations entre les matières organiques et les minéraux (ou éléments issus des minéraux), qui sont à ce jour mal-connus. Les sections suivantes font un court état de l'art des différentes formes de MAOM des sols.

## 1.2.3. Les matières organiques associées aux phases minérales (MAOM)

### 1.2.3.1. Importance de l'altération minérale

Le taux d'altération des minéraux dans les sols est variable en fonction des types de minéraux, des conditions pédoclimatiques et en fonction des interactions avec les plantes et les micro-organismes du sol (Finlay et al., 2020; Samuels et al., 2020). L'altération des minéraux primaires peut donner lieu à des minéraux secondaires tels que des illites, montmorillonites, kaolinite, oxyhydroxydes de Fe, d'Al ou de Si. Cependant l'altération (des minéraux primaires ou secondaires) génère aussi **des éléments de taille nanométriques qui favorisent l'interaction avec des composés organiques** sur les surfaces minérales et dans la solution du sol (Figure 7; Basile-Doelsch et al., 2015).

Depuis une vingtaine d'années, la conceptualisation des MAOM prend en compte de plus en plus les éléments issus de l'altération des minéraux (Kleber et al., 2015; Basile-Doelsch et al., 2015). Passant d'un mécanisme de sorption de C à la surface de minéraux peu ou pas altérés (e.g. complexe argilo-humique) à divers mécanismes de stabilisation possibles prenant en compte cette altération (Basile-Doelsch et al., 2015, 2020). Les différents mécanismes sont explicités ci-après.



### 1.2.3.2. Conceptualisation des MAOM

À ce jour, les mécanismes d'associations de MAOM sont théorisés en 3 types (Basile-Doelsch et al., 2020) et illustrés en Figure 8 :

- Le mécanisme d'**adsorption** de matière organique sur des minéraux (primaires ou secondaires). Les MO adsorbées peuvent être de taille micrométrique à nanométrique (Kleber et al., 2015, 2007).
- Le mécanisme de **coprécipitation** de phases minérales secondaires en présence de MO. La coprécipitation est conceptualisée suivant la taille de la phase minérale avec laquelle la MO est en interaction. Ainsi, certains coprécipités pourraient contenir des minéraux secondaires micrométriques plus ou moins cristallins et des matières ou molécules organiques (Kleber et al., 2015 ; néanmoins, ce modèle d'association à l'échelle micrométrique est difficile à différencier d'un processus

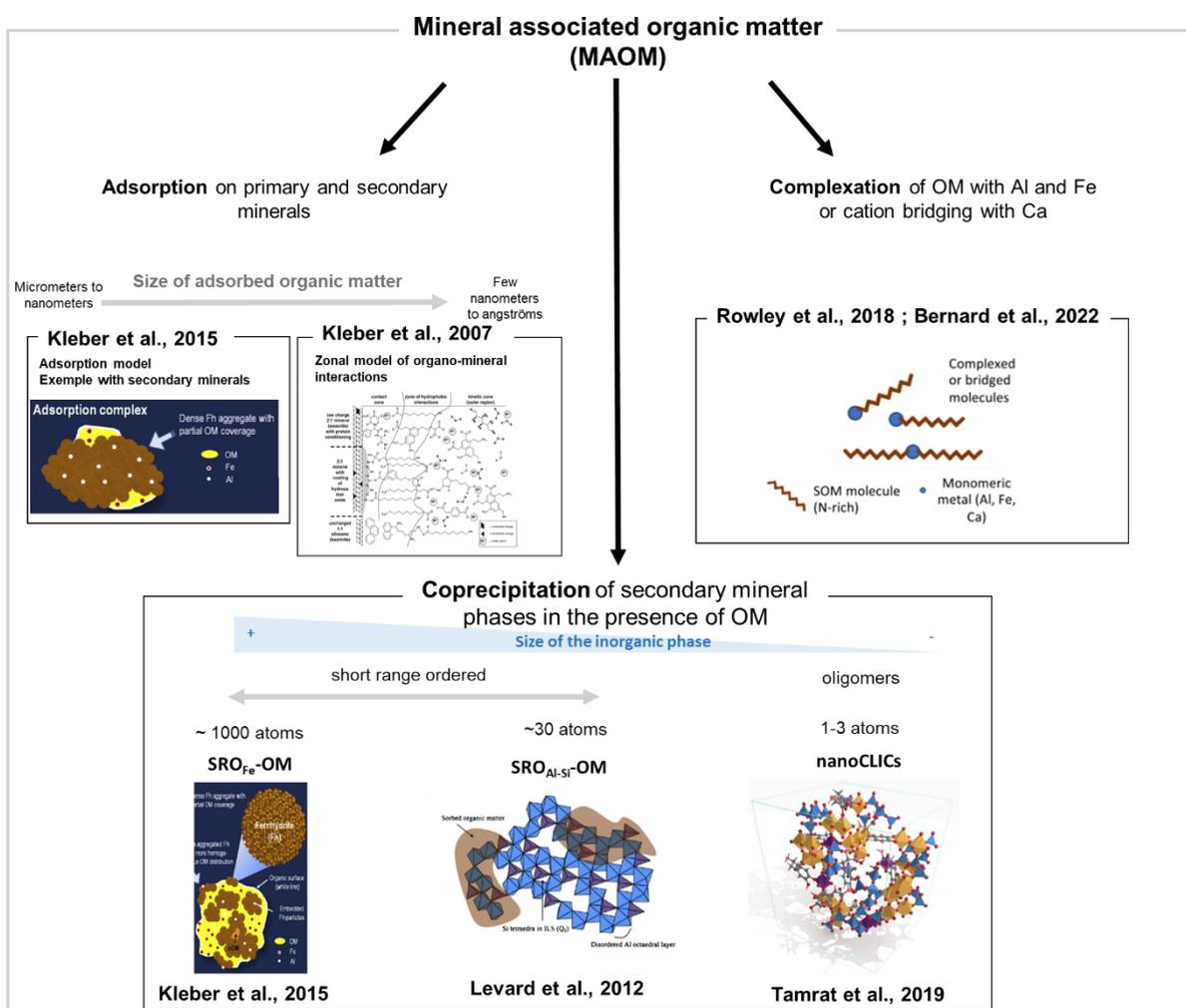


Figure 8. Conceptualisation de l'interaction entre les matières organiques et minérales dans les fractions fines des sols suivant la review de Basile-Doelsch et al (2020). (i) L'adsorption de matière organique sur des minéraux (primaires ou secondaires) (Kleber et al., 2015, 2007). (ii) La coprécipitation de phases minérales secondaires en présence de MO (Kleber et al., 2015; Levard et al., 2012; Tamrat et al., 2019). (iii) Et la complexation de molécules organique avec de l'Al et du Fe monomérique ou des ponts cationiques avec du Ca (Rowley et al., 2018; Bernard et al., 2022)

d'adsorption). Certains coprécipités pourraient contenir des phases mal-cristallisées et des molécules organiques, tel que représenté par Levard et al., 2012. Enfin, des coprécipités pourraient aussi contenir des phases minérales nanométriques qui ne sont plus que de simples oligomères inorganiques et des molécules organiques (Tamrat et al., 2019). Cette dernière association aux échelles nanométriques est appelée nanoCLICs pour « *nanosized coprecipitates of inorganic oligomers with organics* » (Tamrat et al., 2019).

- Le 3<sup>ème</sup> mécanisme est la **complexation** de molécules organiques avec de l'Al et du Fe monomérique ou des ponts cationiques avec du Ca (Rowley et al., 2018; Bernard et al., 2022).

Observer ces formes de MAOM dans les sols reste un défi principalement par l'échelle d'observation requise, mais aussi par le fait de réussir à isoler ces MAOM sans les fragiliser.

### 1.2.3.3. Observations des MAOM dans les sols : focus sur la coprécipitation

#### **Le rôle de l'altération minérale dans la stabilisation du C**

Une méta-analyse prenant en compte divers paramètres physico-chimiques de 5500 profils de sols a démontré une meilleure prédiction du C par les oxyhydroxydes de Fe et d'Al dans les sols à pH neutre à acide (Figure 9 ; Rasmussen et al., 2018). Alors que le Ca échangeable et les argiles granulométriques étaient de meilleurs prédicteurs du C pour les sols plus alcalins et arides. D'un point de vue mécanistique, cette étude traduit le **rôle dominant de l'altération minérale** dans la prédiction du C dans les sols neutres à acide couvrant une grande partie des terres émergées (IGBP-DIS, 1998). Cette étude utilise la mesure de l'Al et du Fe solubilisés par de l'**oxalate d'ammonium-acide oxalique (AOD ;**

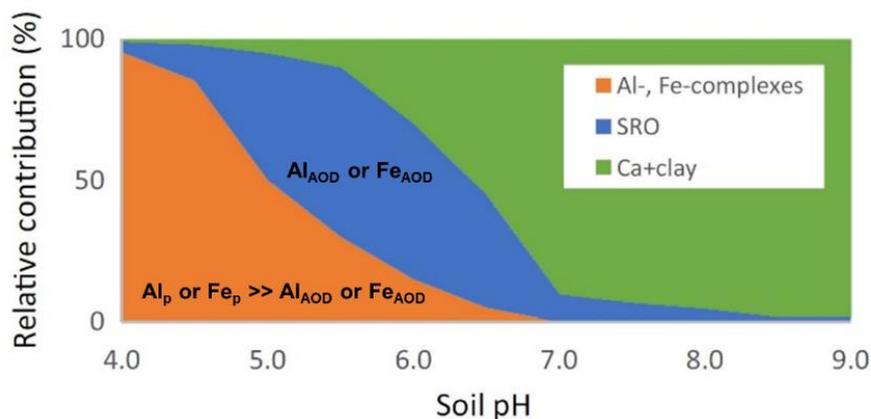


Figure 9. Modèle corrélatif des phases minérales impliquées dans la stabilisation du C suivant le pH des sols, issu de Rasmussen et al., 2018. Les phases appelées « short-range order (SRO) » correspondent majoritairement à une extraction d'Al et Fe par AOD (oxalate d'ammonium-acide oxalique). Les phases appelées « complexes d'Al et de Fe » correspondent majoritairement à du Fe et de l'Al extraits par pyrophosphate.

Tamm, 1922) et du **pyrophosphate** (Pansu and Gautheyrou, 2006). Les extractions par AOD visent à extraire les éléments issus des minéraux mal-cristallisés (e.g. ferrihydrite, aluminosillates mal-cristallisés, allophane, imogolite , etc. ; Rennert, 2018). D'un point de vue mécanistique, tel que définit en partie 1.2.3.2., le Fe et l'Al extraits par AOD pourraient être issus de minéraux secondaires mal-cristallisés, de coprécipités ou de complexes. Les extractions par du pyrophosphate visent à extraire les cations métalliques et les oxides métalliques liés aux MO (Rennert, 2018). D'un point de vue mécanistique, tel que définit en partie 1.2.3.2., l'Al et le Fe extraits par du pyrophosphate pourraient être coprécipités mais aussi complexés au C. Ainsi, ces extractions peuvent être un outil pour mettre en évidence le rôle de l'altération minérale dans la stabilisation du C des sols, mais elles posent deux problèmes : (i) le premier est qu'elles ne sont pas très sélectives, par exemple, les extractions par du pyrophosphate peuvent aussi solubiliser des oxydes de Fe ou de la gibbsite (Rennert 2018). (ii) Et bien que ces extractions reflètent l'importance des phases amorphes et mal-cristallisées, aucune caractérisation de MAOM n'est possible à la suite de ces extractions puisqu'elles sont destructives.

### ***Observations microscopiques des MAOM***

Dans les sols ou les fractions de sols, les associations organo-minérales sont détectées notamment par des analyses d'imageries chimiques aux micros et nano-échelles suivant diverses techniques telles que : la microscopie électronique en transmission (MET) et à balayage (MEB), la microscopie par rayon X (scanning X-ray transmission microscopie ; STXM) ou encore par spectrométrie de masse des ions secondaires (nanoSIMS). À l'aide de ces techniques, des **colocalisations élémentaires entre du C, du Fe et/ou de l'Al** sont visualisées (Chenu and Plante, 2006; Solomon et al., 2012; Wen et al., 2014; Chunmei Chen et al., 2014; Asano et al., 2018; Arachchige et al., 2018; Possinger et al., 2020a; Inagaki et al., 2020). Une grande partie de ces études montrent l'association de ces éléments mais elles ne permettent pas de caractériser les mécanismes qui les lient. Certaines de ces études montrent que des **zones de colocalisation sont amorphes** aux électrons (Figure 10; Chenu and Plante, 2006; Asano et al., 2018), suggérant un mécanisme de coprécipitation ou de complexation plutôt que d'adsorption. Ainsi des coprécipités et/ou des complexes semblent détectés mais leur importance quantitative n'est pas connue.

### ***Focus sur la coprécipitation***

En laboratoire, les coprécipités peuvent être synthétisés avec divers éléments inorganiques issus de l'altération de minéraux (e.g. Fe, Al et Si) et des MO synthétiques ou naturelles très diverses (Eusterhues et al., 2011; C Chen et al., 2014; Tamrat et al., 2018, 2019; Possinger et al., 2021; Lenhardt et al., 2022; Cam et al., in prep). Les coprécipités pourraient donc se former dans des environnements variés. Aussi, ils pourraient participer à la stabilisation du C des sols à pH neutre à acide (Figure 9 ; Rasmussen et al., 2018) et ils pourraient être déjà observés dans certains sols (Figure 10). Malgré ces indices, l'importance quantitative des coprécipités et leur(s) dynamique(s) dans les sols

restent inconnues. C'est pourquoi ce manuscrit de thèse se focalise sur l'étude de coprécipités dans les sols.

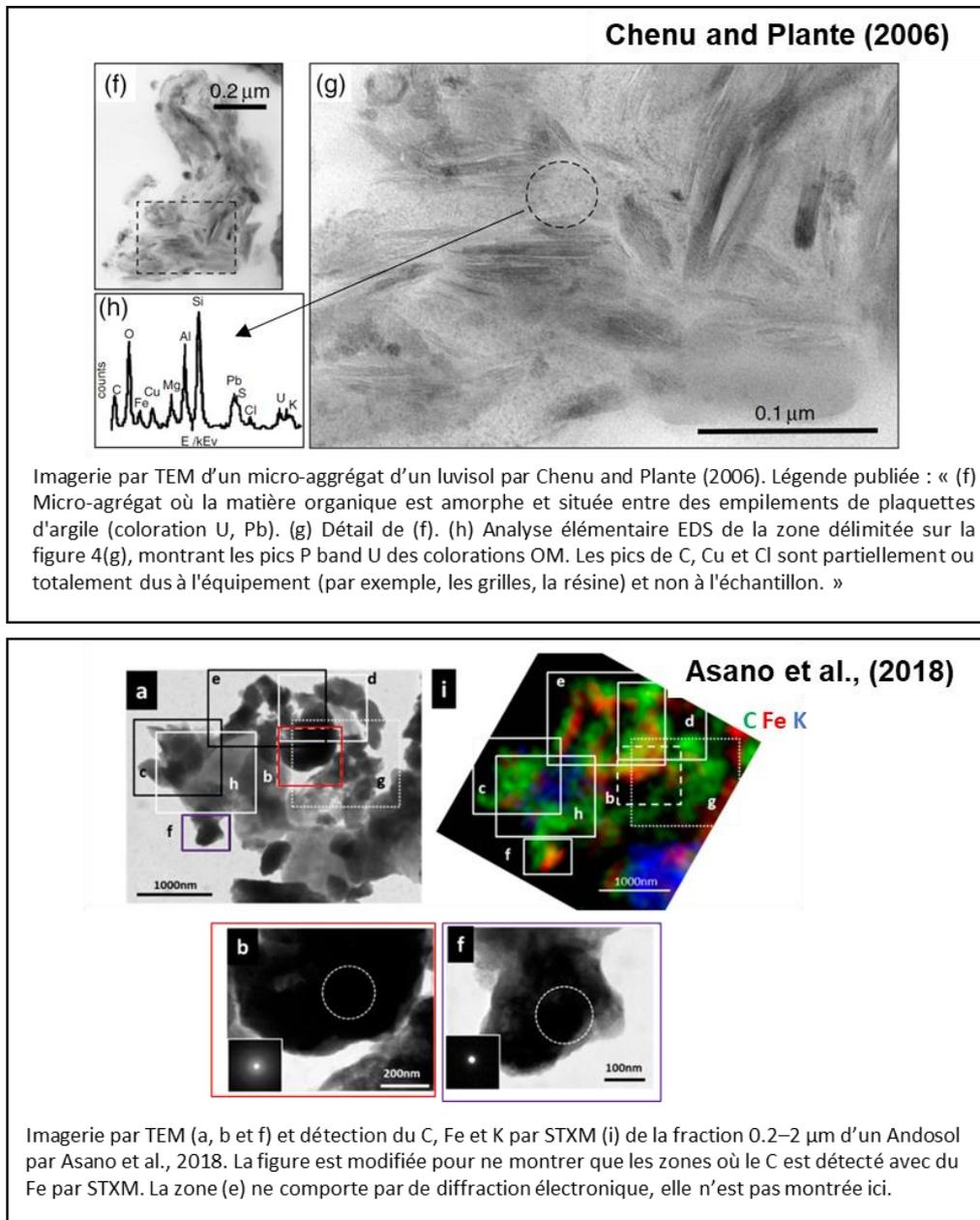


Figure 10. Exemples d'analyses centi-nanométriques montrant une colocalisation du C avec de l'Al et Si ou du Fe dans des zones amorphes aux électrons.

### ***Existant non-publié : des coprécipités-nanoCLICs dans un andosol***

Isabelle Basile-Doelsch et l'équipe environnement durable du CEREGE ont mené divers travaux aux échelles microscopiques via l'ANR nanoSoilC. Nithavong Cam a effectué un post-doctorat dans le cadre de cette ANR. Les résultats suivants sont issus de son post-doctorat. Un article est à ce jour en cours de préparation.

Ces recherches ont porté sur la caractérisation de coprécipités provenant d'andosol (La Réunion). Pour cela des fractions fines ont été analysées par MET-EDX, afin de cartographier les colocalisations élémentaires prépondérantes avec le C. De l'échelle

micro à la centaine de nanomètres, le C est colocalisé avec de l'Al et du Si (et peu de Fe) dans une phase amorphe aux électrons. L'analyse par TEM-EELS (spectroscopie électronique à perte d'énergie) a détecté une colocalisation du C avec de l'Al et Si jusqu'à une résolution de 7 nm (taille de pixel; Figure 11). En parallèle, ces analyses de cartographies chimiques (EDX et EELS) ont été réalisées sur des synthèses de coprécipités-nanoCLICs. Dans ces synthèses, une même colocalisation élémentaire du C, Al, Si est détecté jusqu'à 8 nm dans une phase amorphe aux électrons. Ces résultats tendent à démontrer que les coprécipités-nanoCLICs et les coprécipités de l'andosol étudié sont très similaires aux nano-échelles. L'andosol pourrait contenir des coprécipités contenant du C avec des phases mal-cristallisées (de type proto-imogolites) et des éléments inorganiques amorphes de type nanoCLICs.

Malgré la détection de coprécipités, plutôt de type nanoCLICs, dans un andosol, la dynamique de ceux-ci à l'échelle du profil et suivant les usages des terres est inconnue. La stabilité des MO coprécipitées en interaction avec le vivant est aussi inconnue, tout comme les mécanismes d'associations exactes entre MO et éléments issus de l'altération minérale.

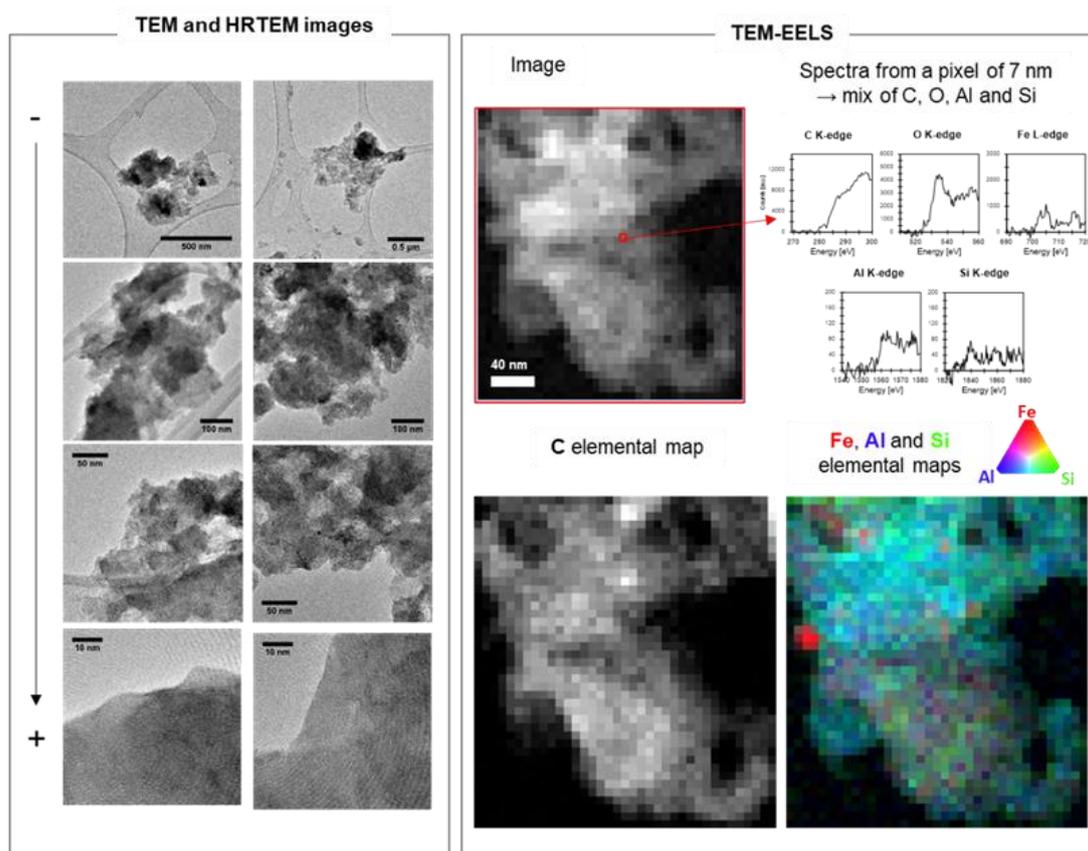


Figure 11. Imagerie et cartographie chimique par TEM-EELS de fractions fines d'andosol (Île de la Réunion) issu de Cam et al., *in prep*. Les images TEM montrent une dominance d'une phase amorphe (par diffraction électronique -non montrée ici- et par des images de haute résolution HRTEM). Cette phase est composée d'un mélange de C, O, Al et Si jusqu'à 7 nm (pixel de 7 nm de distance latérale, soit 49 nm<sup>2</sup>). Le Fe est faiblement détecté par des cartographies STEM-EDX (non montrées ici). Le Fe n'est que peu colocalisé avec C, Al et Si en TEM-EELS aux résolutions nanométriques.

### 1.3. Objectifs de thèse

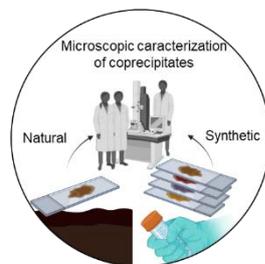
L'objectif général de cette thèse est de **caractériser les coprécipités, et notamment de type nanoCLICs**, dans les sols par une compréhension (i) de leur **dynamique** à l'échelle du profil et en fonction de l'usage des terres, (ii) de leur **structure et de la nature** des associations entre éléments organiques et issus de l'altération minérale, mais aussi (iii) par l'analyse de leur **stabilité** en interactions avec le vivant (micro-organismes et exsudats racinaires). Suite à la détection de coprécipités plutôt de type nanoCLICs dans un andosol (Cam et al., in prep), la dynamique, la structure et la stabilité des coprécipités-nanoCLICs est étudiée sur un même type de sol. Les 4 chapitres de cette thèse sont divisés en fonction de ces questions de recherches. Ces chapitres sont introduits individuellement avec des questions de recherches spécifiques.



L'objectif du chapitre 2 est d'étudier la dynamique des coprécipités lors d'une baisse de stock de C liée à une mise en culture. Pour cela un andosol, très riche en coprécipités est étudié avant et après une mise en culture. L'étude des coprécipités fragilisés par la mise en culture est étudiée à l'aide d'approches chimométriques à l'échelle du profil de sol et par des cartographies chimiques aux micro-échelles.

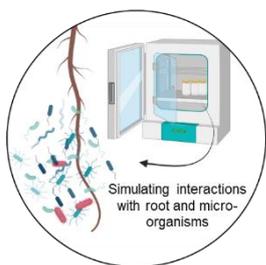


Le chapitre 3 étudie la dynamique des MO apportées aux sols après une quinzaine d'années d'apports de fertilisants organiques. Un premier sous-chapitre discute de la potentialité du traçage isotopique  $^{13}\text{C}$  afin de quantifier le C issu de fertilisants organiques dans des essais agronomiques. Un second sous-chapitre utilise ce traçage isotopique afin de quantifier l'apport de C issu des fertilisants organiques mais aussi afin de détecter/quantifier l'impact sur les MO endogènes. Cette étude est réalisée dans un andosol (riche en coprécipités) et un arénosol à l'échelle du profil de sol. Ces résultats sont incomplets à la suite de retards liés à la pandémie et à une panne instrumentale.



Le chapitre 4 a pour objectif de caractériser le type de coprécipités d'un andosol et de caractériser la nature des interactions entre les matières organiques et les éléments inorganiques. Un premier sous chapitre se focalise sur la caractérisation de coprécipités d'andosols aux nano-échelles en interactions avec d'autres nano-phases du sol. Un second sous-chapitre a pour objectif de caractériser la nature des interactions entre les matières organiques et les éléments issus de l'altération

minérale. Ce dernier objectif comprend l'étude de la spéciation du C aux nano-échelles des MO de coprécipités naturels comparée à des références de laboratoire.



Le chapitre 5 a pour objectif d'étudier la stabilité du C des coprécipités-nanoCLICs. Cette stabilité est étudiée, en microcosmes, par la mesure de la minéralisation du C coprécipité en interaction avec des micro-organismes et des exsudats racinaires, afin de tester un '*priming effect*'.

## 1.4. Références bibliographiques

- Arachchige, P.S.P., Hettiarachchi, G.M., Rice, C.W., Dynes, J.J., Maurmann, L., Wang, J., Karunakaran, C., Kilcoyne, A.L.D., Attanayake, C.P., Amado, T.J.C., Fiorin, J.E., 2018. Sub-micron level investigation reveals the inaccessibility of stabilized carbon in soil microaggregates. *Sci. Rep.* 8, 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34981-9>
- Asano, M., Wagai, R., Yamaguchi, N., Takeichi, Y., Maeda, M., Suga, H., Takahashi, Y., 2018. In Search of a Binding Agent: Nano-Scale Evidence of Preferential Carbon Associations with Poorly-Crystalline Mineral Phases in Physically-Stable, Clay-Sized Aggregates. *Soil Syst.* 2, 32. <https://doi.org/10.3390/soilsystems2020032>
- Balesdent, J., Basile-Doelsch, I., Chadoeuf, J., Cornu, S.S., Derrien, D., Fekiacova, Z., Hatté, C., 2018. Atmosphere–soil carbon transfer as a function of soil depth. *Nature* 559, 599–602. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0328-3>
- Basile-Doelsch, I., Balesdent, J., Pellerin, S., 2020. Reviews and syntheses: The mechanisms underlying carbon storage in soil. *Biogeosciences Discuss.* 1–33. <https://doi.org/10.5194/bg-2020-49>
- Basile-Doelsch, I., Balesdent, J., Rose, J., 2015. Are Interactions between Organic Compounds and Nanoscale Weathering Minerals the Key Drivers of Carbon Storage in Soils? *Environ. Sci. Technol.* 49, 3997–3998. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b00650>
- Bernard, L., Basile-Doelsch, I., Derrien, D., Fanin, N., Fontaine, S., Guenet, B., Karimi, B., Marsden, C., Maron, P.-A., 2022. Advancing the mechanistic understanding of the priming effect on soil organic matter mineralisation. *Funct. Ecol.* n/a. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.14038>
- Bol, R., Poirier, N., Balesdent, J., Gleixner, G., 2009. Molecular turnover time of soil organic matter in particle-size fractions of an arable soil. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 23, 2551–2558. <https://doi.org/10.1002/rcm.4124>
- Calvet, R., Chenu, C., Houot, S., 2011. Les matières organiques des sols: Rôles agronomiques et environnementaux. Editions France Agricole.
- Chen, Chunmei, Dynes, J.J., Wang, J., Karunakaran, C., Sparks, D.L., 2014. Soft X-ray Spectromicroscopy Study of Mineral-Organic Matter Associations in Pasture Soil Clay Fractions. *Environ. Sci. Technol.* 48, 6678–6686. <https://doi.org/10.1021/es405485a>

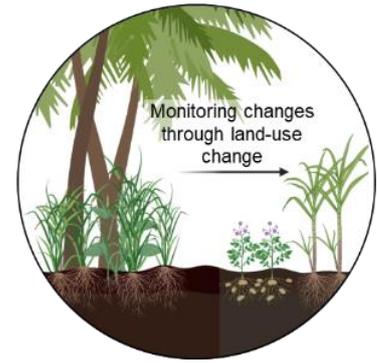
- Chen, C., Dynes, J.J., Wang, J., Sparks, D.L., 2014. Properties of Fe-organic matter associations via coprecipitation versus adsorption. *Environ. Sci. Technol.* 48, 13751–13759. <https://doi.org/10.1021/es503669u>
- Chenu, C., Plante, A.F., 2006. Clay-sized organo-mineral complexes in a cultivation chronosequence: revisiting the concept of the ‘primary organo-mineral complex.’ *Eur. J. Soil Sci.* 57, 596–607. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2006.00834.x>
- Cotrufo, M.F., Ranalli, M.G., Haddix, M.L., Six, J., Lugato, E., 2019. Soil carbon storage informed by particulate and mineral-associated organic matter. *Nat. Geosci.* 12, 989–994. <https://doi.org/10.1038/s41561-019-0484-6>
- Eusterhues, K., Rennert, T., Knicker, H., Kögel-Knabner, I., Totsche, K.U., Schwertmann, U., 2011. Fractionation of Organic Matter Due to Reaction with Ferrihydrite: Coprecipitation versus Adsorption. *Environ. Sci. Technol.* 45, 527–533. <https://doi.org/10.1021/es1023898>
- Feng, W., Shi, Z., Jiang, J., Xia, J., Liang, J., Zhou, J., Luo, Y., 2016. Methodological uncertainty in estimating carbon turnover times of soil fractions. *Soil Biol. Biochem.* 100, 118–124. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.06.003>
- Finlay, R.D., Mahmood, S., Rosenstock, N., Bolou-Bi, E.B., Köhler, S.J., Fahad, Z., Rosling, A., Wallander, H., Belyazid, S., Bishop, K., Lian, B., 2020. Reviews and syntheses: Biological weathering and its consequences at different spatial levels – from nanoscale to global scale. *Biogeosciences* 17, 1507–1533. <https://doi.org/10.5194/bg-17-1507-2020>
- Fontaine, S., Mariotti, A., Abbadie, L., 2003. The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biol. Biochem.* 35, 837–843. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00123-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00123-8)
- Fujisaki, K., Chapuis-Lardy, L., Albrecht, A., Razafimbelo, T., Chotte, J.-L., Chevallier, T., 2018. Data synthesis of carbon distribution in particle size fractions of tropical soils: Implications for soil carbon storage potential in croplands. *Geoderma* 313, 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.10.010>
- GIEC, 2014, 2014. Changements climatiques 2014: Rapport de synthèse. Contribution des Groupes de travail I, II et III au cinquième Rapport d'évaluation du Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat. [Sous la direction de l'équipe de rédaction principale, R.K. Pachauri et L.A. Meyer]. GIEC, Genève, Suisse, 161 p.
- Guo, L.B., Gifford, R.M., 2002. Soil carbon stocks and land use change: a meta analysis. *Glob. Change Biol.* 8, 345–360. <https://doi.org/10.1046/j.1354-1013.2002.00486.x>
- Hiederer, R., Köchy, M., 2011. Global Soil Organic Carbon Estimates and the Harmonized World Soil Database.
- IGBP-DIS, 1998. SoilData(V.0) A program for creating global soil-property databases, IGBP Global Soils Data Task, France.
- Inagaki, T.M., Possinger, A.R., Grant, K.E., Schweizer, S.A., Mueller, C.W., Derry, L.A., Lehmann, J., Kögel-Knabner, I., 2020. Subsoil organo-mineral associations under contrasting climate conditions. *Geochim. Cosmochim. Acta* 270, 244–263. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2019.11.030>
- IPCC 2019, Shukla, P.R., Skea, L., Calvo Buendia, E., Masson-Delmotte, V., Pörtner, H.O., Roberts, D.C., Zhai, P., 2019. IPCC, 2019: Climate Change and Land: an IPCC special report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems.

- Jilling, A., Keiluweit, M., Gutknecht, J.L.M., Grandy, A.S., 2021. Priming mechanisms providing plants and microbes access to mineral-associated organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 158, 108265. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108265>
- Jobbágy, E.G., Jackson, R.B., 2000. The Vertical Distribution of Soil Organic Carbon and Its Relation to Climate and Vegetation. *Ecol. Appl.* 10, 423–436. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2000\)010\[0423:TVDOSO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2000)010[0423:TVDOSO]2.0.CO;2)
- Keiluweit, M., Bougoure, J.J., Nico, P.S., Pett-Ridge, J., Weber, P.K., Kleber, M., 2015. Mineral protection of soil carbon counteracted by root exudates. *Nat. Clim. Change* 5, 588–595. <https://doi.org/10.1038/nclimate2580>
- Kinyangi, J., Solomon, D., Liang, B., Lerotic, M., Wirick, S., Lehmann, J., 2006. Nanoscale Biogeochemical Complexity of the Organomineral Assemblage in Soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70, 1708–1718. <https://doi.org/10.2136/sssaj2005.0351>
- Kleber, M., Eusterhues, K., Keiluweit, M., Mikutta, C., Mikutta, R., Nico, P.S., 2015. Chapter One - Mineral–Organic Associations: Formation, Properties, and Relevance in Soil Environments, in: Sparks, D.L. (Ed.), *Advances in Agronomy*. Academic Press, pp. 1–140. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2014.10.005>
- Kleber, M., Sollins, P., Sutton, R., 2007. A conceptual model of organo-mineral interactions in soils: self-assembly of organic molecular fragments into zonal structures on mineral surfaces. *Biogeochemistry* 85, 9–24. <https://doi.org/10.1007/s10533-007-9103-5>
- Kuzyakov, Y., Friedel, J.K., Stahr, K., 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1485–1498. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00084-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00084-5)
- Lavallee, J.M., Soong, J.L., Cotrufo, M.F., 2020. Conceptualizing soil organic matter into particulate and mineral-associated forms to address global change in the 21st century. *Glob. Change Biol.* 26, 261–273. <https://doi.org/10.1111/gcb.14859>
- Lehmann, J., Kleber, M., 2015. The contentious nature of soil organic matter. *Nature* 528, 60–68. <https://doi.org/10.1038/nature16069>
- Lenhardt, K.R., Breitzke, H., Buntkowsky, G., Mikutta, C., Rennert, T., 2022. Interactions of dissolved organic matter with short-range ordered aluminosilicates by adsorption and co-precipitation. *Geoderma* 423, 115960. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2022.115960>
- Mackenzie, F.T., Lerman, A., 2006. Brief Overview of Carbon on Earth, in: Mackenzie, F.T., Lerman, A. (Eds.), *Carbon in the Geobiosphere — Earth’s Outer Shell —*, TOPICS IN GEOBIOLOGY. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 1–22. [https://doi.org/10.1007/1-4020-4238-8\\_1](https://doi.org/10.1007/1-4020-4238-8_1)
- Mehra, O.P., Jackson, M.L., 1958. Iron oxid removal from soils clays by a dithionite-citrate system buffered with sodium bicarbonate., in: Ingerson, E. (Ed.), *Clays and Clay Minerals*. Pergamon, pp. 317–327. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-009235-5.50026-7>
- Pansu, M., Gautheyrou, J. (Eds.), 2006. Mineralogical Separation by Selective Dissolution, in: *Handbook of Soil Analysis: Mineralogical, Organic and Inorganic Methods*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 167–219. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-31211-6\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-540-31211-6_6)
- Pellerin, S., Bamière, L., Launay, C., Martin, R., Schiavo, M., Angers, D., Augusto, L., Balesdent, J., Basile-Doelsch, I., Bellassen, V., Cardinael, R., Cécillon, L., Ceschia, E., Chenu, C., Constantin, J., Daroussin, J., Delacote, P., Delame, N., Gastal, F., Gilbert, D., Graux, A.-I., Guenet, B., Houot, S., Klumpp, K., Letort, E., Litrico, I., Martin, M., Menasseri-Aubry, S., Meziere, D., Morvan, T., Mosnier, C., Roger-Estrade, J., Saint-

- André, L., Sierra, J., Therond, O., Viaud, V., Grateau, R., Le Perchec, S., Savini, I., Rechauchère, O., 2020. Stocker du carbone dans les sols français. Quel potentiel au regard de l'objectif 4 pour 1000 et à quel coût? (Other). INRA. <https://doi.org/10.15454/nhxt-gn38>
- Possinger, A.R., Bailey, S.W., Inagaki, T.M., Kögel-Knabner, I., Dynes, J.J., Arthur, Z.A., Lehmann, J., 2020a. Organo-mineral interactions and soil carbon mineralizability with variable saturation cycle frequency. *Geoderma* 375, 114483. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114483>
- Possinger, A.R., Zachman, M.J., Dynes, J.J., Regier, T.Z., Kourkoutis, L.F., Lehmann, J., 2021. Co-precipitation induces changes to iron and carbon chemistry and spatial distribution at the nanometer scale. *Geochim. Cosmochim. Acta* 314, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2021.09.003>
- Possinger, A.R., Zachman, M.J., Enders, A., Levin, B.D.A., Muller, D.A., Kourkoutis, L.F., Lehmann, J., 2020b. Organo-organic and organo-mineral interfaces in soil at the nanometer scale. *Nat. Commun.* 11, 6103. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19792-9>
- Rennert, T., 2018. Wet-chemical extractions to characterise pedogenic Al and Fe species – a critical review. *Soil Res.* 57, 1–16. <https://doi.org/10.1071/SR18299>
- Rowley, M.C., Grand, S., Verrecchia, É.P., 2018. Calcium-mediated stabilisation of soil organic carbon. *Biogeochemistry* 137, 27–49. <https://doi.org/10.1007/s10533-017-0410-1>
- Samuels, T., Bryce, C., Landenmark, H., Marie-Loudon, C., Nicholson, N., Stevens, A.H., Cockell, C., 2020. Microbial Weathering of Minerals and Rocks in Natural Environments, in: *Biogeochemical Cycles*. American Geophysical Union (AGU), pp. 59–79. <https://doi.org/10.1002/9781119413332.ch3>
- Schmidt, M.W.I., Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I.A., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D.A.C., Nannipieri, P., Rasse, D.P., Weiner, S., Trumbore, S.E., 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* 478, 49–56. <https://doi.org/10.1038/nature10386>
- Shi, Z., Allison, S.D., He, Y., Levine, P.A., Hoyt, A.M., Beem-Miller, J., Zhu, Q., Wieder, W.R., Trumbore, S., Randerson, J.T., 2020. The age distribution of global soil carbon inferred from radiocarbon measurements. *Nat. Geosci.* 13, 555–559. <https://doi.org/10.1038/s41561-020-0596-z>
- Shimada, H., Wagai, R., Inoue, Y., Tamura, K., Asano, M., 2022. Millennium timescale carbon stability in an Andisol: How persistent are organo-metal complexes? *Geoderma* 417, 115820. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2022.115820>
- Solomon, D., Lehmann, J., Harden, J., Wang, J., Kinyangi, J., Heymann, K., Karunakaran, C., Lu, Y., Wirrick, S., Jacobsen, C., 2012. Micro- and nano-environments of carbon sequestration: Multi-element STXM-NEXAFS spectromicroscopy assessment of microbial carbon and mineral associations. *Chem. Geol., Looking into the Nano-World using X-Rays* 329, 53–73. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2012.02.002>
- Soussana, J.-F., Lutfalla, S., Ehrhardt, F., Rosenstock, T., Lamanna, C., Havlík, P., Richards, M., Wollenberg, E. (Lini), Chotte, J.-L., Torquebiau, E., Ciais, P., Smith, P., Lal, R., 2019. Matching policy and science: Rationale for the '4 per 1000 - soils for food security and climate' initiative. *Soil Tillage Res., Soil Carbon and Climate Change: the 4 per Mille Initiative* 188, 3–15. <https://doi.org/10.1016/j.still.2017.12.002>
- Tamm, O., 1922. Eine Methode zur Bestimmung der anorganischen Komponenten des Gelkomplexes im Boden. *Medd. Fran Statens Skogsforsoksanstalt* 19, 385–404.

- Tamrat, W.Z., Rose, J., Grauby, O., Doelsch, E., Levard, C., Chaurand, P., Basile-Doelsch, I., 2019. Soil organo-mineral associations formed by co-precipitation of Fe, Si and Al in presence of organic ligands. *Geochim. Cosmochim. Acta* 260, 15–28. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2019.05.043>
- Tamrat, W.Z., Rose, J., Grauby, O., Doelsch, E., Levard, C., Chaurand, P., Basile-Doelsch, I., 2018. Composition and molecular scale structure of nanophases formed by precipitation of biotite weathering products. *Geochim. Cosmochim. Acta* 229, 53–64. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2018.03.012>
- Trumbore, S.E., Vogel, J.S., Southon, J.R., 1989. AMS 14C Measurements of Fractionated Soil Organic Matter: An Approach to Deciphering the Soil Carbon Cycle. *Radiocarbon* 31, 644–654. <https://doi.org/10.1017/S0033822200012248>
- Van-Camp, L., Gentile, A.-R., Bujarrabal, B., Jones, R., Montanarella, L., Olazabal, C., Selvaradjou, S.K., 2004. Reports of the Technical Working Groups Established under the Thematic Strategy for Soil Protection. Vol. IV: Contamination and Land Management. [WWW Document]. JRC Publ. Repos. URL <https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC28870> (accessed 10.14.22).
- Wen, Y., Li, H., Xiao, J., Wang, C., Shen, Q., Ran, W., He, X., Zhou, Q., Yu, G., 2014. Insights into complexation of dissolved organic matter and Al(III) and nanominerals formation in soils under contrasting fertilizations using two-dimensional correlation spectroscopy and high resolution-transmission electron microscopy techniques. *Chemosphere* 111, 441–449. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.03.078>
- Witzgall, K., Vidal, A., Schubert, D.I., Höschel, C., Schweizer, S.A., Buegger, F., Pouteau, V., Chenu, C., Mueller, C.W., 2021. Particulate organic matter as a functional soil component for persistent soil organic carbon. *Nat. Commun.* 12, 4115. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24192-8>

## 2. Chapitre 2 : Caractérisation de coprécipités d'andosol avant et après une mise en culture



Les personnes impliquées ainsi que leurs contributions respectives à ce chapitre de thèse sont listées ci-dessous. **Floriane Jamoteau** a préparé les échantillons (broyage, fractionnement et préparation pour toutes les analyses), effectué les analyses de C, par DRX et MIR, les traitements chimométriques ainsi que la rédaction de ce chapitre. **Isabelle Basile-Doelsch** a conceptualisé les questions de recherches en amont des prélèvements, participé à la conception de toutes les étapes analytiques, aux traitements de données et à la rédaction de ce chapitre. **Clément Levard** a participé aux traitements chimométriques et à une partie de la rédaction de ce chapitre. **Thierry Woignier** et **Luc Rangon** ont réalisé l'échantillonnage et préparé les sols pour l'envoi en métropole (IMBE-Martinique). **Nithavong Cam** et **Solène Quero** ont aidé aux dosages de C des sols. **Adrien Duvivier** a aidé aux préparations des sols. **Daniel Borschneck** a analysé les échantillons par DRX et participé aux traitements chimométriques. **Vladimir Vidal** a participé au traitement chimométrique. **Andrea Campos** a réalisé les analyses de microscopie (CP2M-Marseille). **Jeff Baldock** et **Ryan Farquharson** ont réalisé les analyses par infra-rouge et une partie des traitements chimométriques (CSIRO-Adelaide). **Janine McGowan** a réalisé des extractions chimiques et des analyses par RMN (données non interprétées ensuite ; CSIRO-Adelaide). Les discussions avec **Nathalie Dupuy** et **Sandrine Amat** ont permis d'éclaircir l'analyse des traitements chimométriques (IMBE-Marseille).

En plus du financement de cette thèse par le **CIRAD** et la **région SUD**, ces résultats ont été financés par l'**ANR nanoSoilC**, portée par Isabelle Basile-Doelsch.

## 2.1. Introduction

La mise en culture d'un sol peut induire une perte de C, appelée déstabilisation de C (Guo and Gifford, 2002a; Poeplau and Don, 2013; Sanderman et al., 2017). Cette déstabilisation de C se définit comme : le passage du C d'un état protégé à un état disponible (Bailey et al., 2019). Le C des matières organiques (MO) des sols, à un temps T, peut prendre la forme de matières organiques particulières (POM) et de matières organiques associées aux minéraux (MAOM ; cf Etat de l'art). L'importance des POM et MAOM peut varier suivant les conditions pédoclimatiques, mais à l'échelle globale, les MAOM contribuent en grande partie aux MO des sols en climat tempéré (Cotrufo et al., 2019) et tropical (Fujisaki et al., 2018). Comparé aux POM, l'âge moyen du C des MAOM est plus élevé, de l'ordre de la centaine d'années jusqu'au millénaire dans certains sols (Trumbore et al., 1989; Bol et al., 2009; Feng et al., 2016; Shimada et al., 2022). Pourtant certains sols très riches en MAOM, comme les andosols, peuvent être sujets à une déstabilisation du C après une mise en culture d'une ou quelques dizaines d'années (Verde et al., 2005; Basile-Doelsch et al., 2009; Dube et al., 2009; Osher et al., 2003; Koga et al., 2020). Les formes de C impactées et sujettes à la déstabilisation par la mise en culture sont à ce jour mal connues.

Les MAOM regroupent une diversité de processus d'association comme l'adsorption, la coprécipitation ou bien la complexation (Basile-Doelsch et al., 2020). Dans la littérature, le processus de coprécipitation entre l'Al et/ou le Fe avec du C est mis en avant par des extractions chimiques (Rasmussen et al., 2018). Cependant la nature des coprécipités comporte plusieurs inconnues : (i) la taille de la phase minérale avec laquelle la MO est en interaction : de l'échelle du micromètre jusqu'à l'échelle de quelques nanomètres, alors appelé « nanoCLICs » (Kleber et al., 2015; Levard et al., 2012; Tamrat et al., 2019), mais aussi (ii) suivant la nature des éléments inorganiques et (iii) organiques impliqués dans ces coprécipités.

Dans les sols riches en MAOM, tel que les andosols, le C des MAOM est associé à de l'Al et/ou du Fe (Verde et al., 2005; Basile-Doelsch et al., 2005; Matus et al., 2006; Beare et al., 2014; Curtin et al., 2015; Asano et al., 2018; Inagaki et al., 2020). Cependant, l'association entre les éléments inorganiques et organiques n'est encore pas totalement connue. Par l'étude de ponces altérées, le C des MAOM était initialement attribué à une association sous forme de coprécipités avec *imogolites type material* (ITM) de type imogolites et allophanes (Wada and Harward, 1974; Henmi and Wada, 1976). Cependant, dans les d'andosols, seuls des ITM précurseurs d'imogolites et d'allophanes sont détectés et appelés proto-imogolites (Levard et al., 2012). Ces observations ont alors suggéré des coprécipités de MO avec des minéraux mal-cristallisés tel que les proto-imogolites dans les andosols (Levard et al., 2012). Cependant, ces observations ne permettent pas de savoir si ces ITM sont des structures qui composent majoritairement les coprécipités d'andosols ou bien si les coprécipités se composent aussi d'autres types de nano-phases avec des structures et des compositions chimiques variables de type nanoCLICs. Ainsi, isoler et caractériser les coprécipités, sans les fragiliser, pourrait apporter des clefs de

compréhension sur leur(s) structure(s). Aussi, par leur forte teneur en coprécipités, les andosols pourraient être un premier exemple de caractérisation de coprécipités avant et après une mise en culture.

Par leur composition, la caractérisation des coprécipités doit être faite d'un point de vue organique et inorganiques. L'étude des liaisons élémentaires peut être faite par infra-rouge, pouvant caractériser les liaisons organiques et inorganiques des coprécipités. Toutefois, dans les matrices complexes comme les sols, les signaux obtenus en infra-rouge se superposent et sont, par conséquent, difficiles à interpréter. Mais récemment, le développement de la chimiométrie (e.g. l'application d'outils statistiques pour obtenir le maximum d'informations à partir de données chimiques) permet de modéliser les nombres d'ondes corrélés au C organique des sols (Steffens and Buddenbaum, 2013; Baldock et al., 2013a, 2019; Chevallier et al., 2019; Guigue et al., 2022). Ainsi, la modélisation des nombres d'ondes liés aux C pourrait être un outil de caractérisation de la nature du C organique et des éléments inorganiques coprécipités. De plus, d'autres outils chimiométriques peuvent être utilisés pour corrélérer deux techniques spectrales différentes (Noda and Ozaki, 2004; Forouzangohar et al., 2013). Par exemple, Forouzangohar et al., (2013) a utilisé le moyen infra-rouge (MIR) pour prédire les signaux détectés par résonance magnétique nucléaire dans les sols. La caractérisation des coprécipités pourrait être faite par l'étude de l'ordre minéralogique par diffraction des rayons X (DRX) et par l'étude des liaisons élémentaires par moyen infra-rouge. Ainsi la corrélation de ces deux techniques permettrait de caractériser le type et l'ordre élémentaire des éléments coprécipités.

Ainsi, l'objectif de cette étude est de caractériser les coprécipités d'andosols et de mesurer le potentiel impact d'une mise en culture sur ces coprécipités. Pour cela nous proposons de quantifier et de caractériser les coprécipités d'andosols à l'échelle de deux profils de sol, l'un en forêt et le second cultivé. (i) Dans un 1<sup>er</sup> temps, les évolutions physico-chimiques des sols par la mise en culture sont caractérisées à l'échelle du sol *bulk*. (ii) Dans un second temps, les sols sont fractionnés afin de quantifier la perte de C coprécipité. Les coprécipités sont isolés sans les fragiliser et leurs présences est attestée par cartographie chimique MEB-EDX. (iii) Puis, dans un troisième temps, les coprécipités sont caractérisés par MIR et DRX. Cette caractérisation comporte des analyses chimiométriques afin de caractériser les liaisons élémentaires impliquées et l'ordre minéralogique de ces objets.

## 2.2. Matériels et méthodes

### 2.2.1. Site expérimental, échantillonnage et fractionnement des sols

Deux profils d'andosols (FAO, 2014) ont été échantillonnés près de Sainte-Marie sur l'île de La Martinique. Le climat est tropical humide avec une température moyenne de 25°C et des précipitations moyennes de 3000 mm par an. Les deux profils sont distants de 300 m et situés à environ 300 m d'altitude a.s.l. Les profils de sol sont un andosol en forêt (N:14°46'31";O:61°2'31") et un andosol de culture (N:14°46'27";O:61°2'57"). Le sol en culture a été converti il y a 30 ans, passant d'une forêt à un système de culture composé de rotations de 3 ans de dachine, patates douces, igname et en jachère. Quelques animaux sont mis en pâturage. Les horizons échantillonnés sont 0-5 ; 5-10 ; 10-15 ; 15-20 ; 20-30 ; 30-40 ; 40-50 ; 50-60 ; 60-70 ; 70-80 cm.

Les fractions du sol sont séparées par tamisage humide, afin de concentrer les MOAMs dans la fraction <20 µm<sup>a</sup>. Brièvement, 10-20 g de sol séché à l'air sont ajoutés à 100 mL d'eau milliQ et sonifié (16 J.mL<sup>-1</sup> ; comme utilisé par Basile-Doelsch et al., 2007). Les 100 mL sont ensuite tamisés par voie humide en utilisant successivement des tamis de 100 et 20 µm. Les fractions >100 µm et 20-100 µm sont séchées à 40 °C. 1 à 2 mL de la fraction <20 µm est prélevé pour les analyses de microscopie et conservé à 4 °C. Ensuite, la fraction <20 µm est décantée pendant 12 h minimum à 4 °C pour éliminer le surnageant d'eau avant d'être séché à 40 °C.

### 2.2.2. Mesure de C et calcul du stock de C

Environ 5 à 13 mg d'échantillons (de sol bulk ou de fraction de sol) ont été pesés dans des nacelles en étain pour les analyses de carbone organique total (COT) par combustion sèche avec un analyseur élémentaire (analyseur FlashSmart, NF ISO 10694).

Les stocks de carbone organique du sol (stock SOC, kg·m<sup>-2</sup>) sont calculés suivant les équations suivantes (Quero et al., 2022) :

$$SOC\ stock_i = BD_i \times TOC_i \times e_i \div 10 \quad (1)$$

$$SOC\ stock_n = \sum_{i=1}^n SOC\ stock_i \quad (2)$$

---

<sup>a</sup> Les MAOM ont été isolés sans ajout de dispersant afin de les caractériser. La fraction <20 µm concentre les MOAM dans les sols (Cotrufo et al., 2019). Cette fraction est principalement isolée par sédimentation ou par tamisage humide. Dans un premier temps, des essais de séparation des MAOM par sédimentation ont été conduits mais cette méthode provoque l'apparition d'un gel dense (tel que décrit par Inagaki et al., 2019). Ce gel peut « encapsuler » diverses particules du sol et il a un temps de sédimentation variable entre les échantillons. La méthode par sédimentation a donc été écartée pour une meilleure reproductibilité entre tous les échantillons. C'est pourquoi les MAOM ont été isolées par tamisage humide à la suite d'une désagrégation par ultra-sons. Cette méthode a l'avantage de désagréger temporairement cette phase de gel pour mieux l'isoler à travers un tamis inférieur à 20 µm.

Avec  $i$  l'horizon de sol considéré, et  $n$  le nombre d'horizon analysé.  $TOC$  est la concentration en carbone du sol [ $\text{g.kg}^{-1}$ ],  $BD$  est la densité apparente [ $\text{g.cm}^{-3}$ ] et  $e$  l'épaisseur de la couche [ $\text{cm}$ ] (Poeplau et al., 2017).

Une correction de l'équation 2 a été appliquée afin de comparer les stocks de C à masse équivalente et ainsi éliminer les différences de densité apparente entre les deux sites pour une même profondeur (Ellert and Bettany, 1995; Poeplau and Don, 2013; Barré et al., 2020). La masse de sol de référence est l'horizon le plus lourd. Cette correction du stock de C ( $SOC\ stock_{corr}$ ) est appliquée pour tous les horizons cumulés de 0 à 80 cm, suivant l'équation (#2) :

$$SOC\ stock_{n-corr} = SOC\ stock_n + \left( TOC_{n+1} * \frac{M_{n\ heaviest} - M_n}{10} \right) \quad (\#2)$$

Avec  $n$  l'horizon considéré ;  $SOC\ stock_n$  le stock de SOC cumulé non corrigé en  $\text{kg m}^{-2}$ ;  $M_{n\ heaviest}$  la masse de sol la plus lourde [ $\text{g cm}^{-2}$ ] des deux sites et  $M_n$  la masse de sol la plus légère [ $\text{g cm}^{-2}$ ] et  $TOC$  est la concentration de carbone du sol.

Le stock de C par fraction ( $Stock\ C_{fraction}$ ;  $< 20\ \mu\text{m}$  ;  $20 - 100\ \mu\text{m}$  ;  $> 100\ \mu\text{m}$ ) pour un horizon donné, est calculé suivant l'équation (3) :

$$Stock\ C_{fraction} = SOC\ stock_{n-corr} \times \%C\ in\ the\ fraction \quad (3)$$

Avec  $\%C\ in\ the\ fraction$ , le pourcentage de C dans la fraction de l'horizon.

Le stock de C perdu dans une fraction de sol ( $Stock\ C_{lost}$ ), dans un horizon donné, est issu de la soustraction du stock de C dans une fraction de sol en forêt par celui du sol cultivé (4) :

$$Stock\ C_{lost} = Stock\ C_{fraction\ forest} - Stock\ C_{fraction\ crop} \quad (4)$$

Avec  $Stock\ C_{fraction\ forest}$ , le stock de C issu de la fraction du sol en forêt et  $Stock\ C_{fraction\ crop}$ , le stock de C issu de la même fraction du sol cultivé.

### 2.2.3. Mesures des paramètres physico-chimiques des sols

Le pH des sols est réalisé avec un ratio volumique de sol/eau milliQ de 1:5 (10 ml de volume de sol).

Les extractions chimiques suivantes ont été réalisées par le laboratoire d'analyse d'Arras. Les extractions de Fe, Si et Al sont réalisés avec de l'oxalate d'ammonium-acide oxalique (AOD ; Tamm, 1922 dans l'obscurité), dithionite-citrate (DCB, Mehra and Jackson, 1958) et pyrophosphate (Pansu and Gautheyrou, 2006). La teneur totale en Fe est analysée suite à une extraction avec de l'acide hydrofluorique et la teneur totale en Al et Si suite à une fusion au peroxyde de sodium. Le Fe, l'Al et le Si en solution sont mesurés par spectroscopie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES).

L'extraction des éléments ( $E_{\text{mineral}}$ ) est exprimée en g.100g<sup>-1</sup> de sol minéral en utilisant l'équation (5) :

$$E_{\text{mineral}} = \frac{E \times 100}{100 - OM/10} \quad (5)$$

Avec  $E$  la concentration en éléments en g.100g<sup>-1</sup> et  $OM$  la teneur en matière organique en g.kg<sup>-1</sup> (avec  $OM = 1,73 \times \text{TOC}$ , avec TOC en g.kg<sup>-1</sup>).

L'Al, le Si et le Fe extraits par DCB, AOD et pyrophosphate sont ensuite exprimés en pourcentage de Fe, Al et Si total extraits par acide hydrofluorique et peroxyde de sodium. Toutes ces données sont accessibles en Annexe 1.

## 2.2.4. Caractérisation minérale et organique

### 2.2.4.1. Caractérisation minérale par diffraction des rayons X (DRX)

La minéralogie des échantillons est analysée sur poudre libre déposée sur un porte-échantillon en silicium. L'analyse est effectuée avec le diffractomètre Philips P3710 X-ray, radiation de Co-K $\alpha$  à 40 mA;  $\lambda = 1,79 \text{ \AA}$ . Les paramètres d'acquisition des diffractogrammes ont varié suivant les objectifs de mesures :

(i) Les échantillons de sol *bulk* sont analysés sur une gamme angulaire de 5-75°, un pas de 0.033° et un temps de comptage de 1000s par pas.

(ii) Les fractions de sol (<20  $\mu\text{m}$  ; 20-100  $\mu\text{m}$  ; >100  $\mu\text{m}$ ) des horizons 10-15 cm et 50-60 cm sont analysés sur une gamme angulaire de 2-75°, un pas de 0.026° et un temps de comptage de 1000s par pas. Un masque de 4 mm est appliqué pour ces mesures afin de réduire l'influence du faisceau direct aux angles faibles (meilleure définition des phases mal-cristallisées/amorphes aux faibles angles) mais aussi pour garder un nombre suffisant de coups pour les angles plus élevés.

(iii) Enfin, afin d'étudier les phases amorphes aux bas angles les fractions <20  $\mu\text{m}$  de tous les horizons de sol, le faisceau direct est réduit davantage (masque de 4 mm, réduction des fentes de divergence et nombres de canaux du détecteur réduits par 2). 300 mg de chaque fraction sont analysés sur une gamme angulaire de 2-32° avec un pas de 0.039° et 900 s par pas.

Dans un but de comparaison, des références de coprécipités-nanoCLICs sont analysés par DRX. Ces coprécipités-nanoCLICs sont synthétisés suivant le protocole de Tamrat et al., 2018, 2019 à partir d'altération de labradorite et d'altération de basalte, afin d'obtenir des coprécipités de C-Al-Si et Al-Si (altération de labradorite) et de C-Fe-Al et Fe-Al, (altération de basalte)<sup>b</sup>. Les analyses par DRX sont faites avec le même diffractomètre, sur une gamme angulaire de 2-75°, un pas de 0.026 ou 0.033° et un temps de comptage de 162 ou 206 s.

---

<sup>b</sup> Les synthèses de coprécipités-nanoCLICs sont détaillées dans le Chapitre 5 de cette thèse. La caractérisation de ces coprécipités est approfondie de ce même chapitre.

#### **2.2.4.2. Caractérisation minérale et organique par moyen infrarouge (MIR)**

L'analyse par spectrométrie infrarouge à réflectance diffuse (MIR ; Bruker INVENIO) est réalisée sur les fractions <20 µm (séchées à 40°C). Environ 100 mg de fraction (volume constant) sont placés dans des plots d'échantillonnage automatique en acier inoxydable de 9 mm de diamètre. La surface est nivelée. 180 spectres sont acquis par échantillon (avec 4 répétitions). Des sols standards sont utilisés comme contrôles de qualité pour assurer le bon fonctionnement du spectromètre lors de l'analyse des échantillons. Omnic version 8.0 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) est utilisé pour convertir les spectres de réflectance acquis en spectres d'absorbance (transformation logarithmique de l'inverse de la réflectance). Les nombres d'ondes sont compris entre 7500 cm<sup>-1</sup> et 600 cm<sup>-1</sup> avec une résolution de 4 cm<sup>-1</sup>, puis réduits de 6000 à 600 cm<sup>-1</sup>. La moyenne des 4 répétitions de chaque échantillon est utilisée comme résultat. Le traitement des spectres MIR est ensuite fait avec le logiciel The Unscrambler Version 10.5. Pour chaque spectre, la ligne de base est soustraite (soustraction de la valeur minimale de chaque spectre), puis une normalisation par une transformation *Standard Normal Variate* (SNV ; Barnes et al., 1989) est effectuée. La normalisation SNV a donné de meilleurs résultats que la correction *multiple scatter correction* (MSC) habituellement utilisée pour les poudres.

#### **2.2.5. Analyses chimiométriques des signaux DRX et MIR**

##### **2.2.5.1. Modélisation PLSR des signaux MIR**

Afin d'identifier de potentielles données aberrantes dans les spectres MIR des fractions <20 µm du sol en forêt et du sol cultivé, une analyse par composante principale (PCA) est appliquée indépendamment sur les fractions issues du sol en forêt et cultivé. Aucune valeur aberrante dans ces données n'est remarquée (Annexe 2). À la suite de ces résultats, des modélisations par *partial least squares regression* (PLSR) sont réalisées à partir des spectres MIR afin de connaître les nombres d'ondes impliquées dans la modélisation de la concentration en C des fractions <20 µm. Un premier modèle PLSR est fait à partir des fractions <20 µm du sol en forêt (sur le 0- 80 cm, soit 10 données). Le second modèle PLSR est fait à partir des fractions <20 µm du sol cultivé (sur le 0-80 cm, soit 10 données). Comme démontré par Baldock et al., 2013 et 2019, la racine carrée du carbone est utilisée afin de corriger la non-linéarité de l'algorithme de prédiction et pour homogénéiser la variance des résidus. Les modèles PLSR sont développés avec une validation croisée complète (*full cross validation*). Le ratio de la performance par rapport à l'écart-type (RPD ; RPD = écart-type des échantillons mesurés /erreur standard du modèle ; Chang et al., 2001; Baldock et al., 2013) et le ratio de la performance par rapport à l'interquartile (RPIQ ; RPIQ =(interquartile 3 - interquartile 1)/erreur standard du modèle ; Bellon-Maurel and McBratney, 2011) sont utilisés pour définir la qualité des modèles. Suivant Chang et al. (2001) et Bellon-Maurel and McBratney (2011), les modèles avec un RPD et un RPIQ > 2 comme sont considérés comme excellent, entre 1.4 et 2 comme bon et

inférieur à 1.4 comme non-fiable. Le modèle des fractions <20 µm du sol en forêt a un RPD de 6.8 et un RPIQ de 10.1. Le modèle des fractions <20 µm du sol cultivé a un RPD de 3.7 et un RPIQ de 5. Malgré le faible nombre de données (n=10) pour chaque modèle, ils sont classés dans la catégorie “excellent” (détails des paramètres des modèles en Annexe 3).

#### **2.2.5.2. Corrélation les signaux MIR et DRX (2D synchronous hetero correlation spectra)**

Afin d'étudier les corrélations entre les angles de DRX et les nombres d'ondes MIR, nous avons réalisé une corrélation de ces signaux avec l'extension «2D Synchronous Correlation Spectroscopy Analysis» du logiciel OriginPro (version 2022). Plus précisément, le but est de comprendre quels nombres d'ondes sont corrélés ou anti-corrélés aux signaux des phases amorphes aux bas angles détectés par DRX (0-15°). L'algorithme est basé sur la théorie détaillée par Noda and Ozaki, 2004. C'est une comparaison quantitative de la dépendance de deux sets de spectres dynamiques (dans ce cas l'intensité des angles des diffractogrammes de DRX et l'intensité des nombres d'ondes des spectres MIR) ayant une perturbation externe (ici, l'évolution vers la surface ou la profondeur). Deux matrices distinctes sont réalisées pour les fractions <20 µm du sol en forêt et pour les fractions <20 µm du sol cultivé. Pour chaque matrice, la même variable de perturbation est appliquée, c'est-à-dire l'évolution vers la surface (l'horizon 80-90 cm est fixé à 0 cm et l'horizon 0-5 cm est fixé à 70 cm). La comparaison mathématique requiert un spectre de référence. Pour cette étude : nous avons choisi l'horizon 20-30 cm car les spectres DRX des angles entre 2 et 15° étaient les plus similaires entre le sol en forêt et cultivé. Le coefficient de corrélation attribué reflète les corrélations et anti-corrélations entre les liaisons MIR et les angles de DRX en fonction de l'évolution vers la surface : (i) un coefficient positif signifie que l'intensité des deux variables spectrales augmentent ou diminuent avec l'évolution vers la surface, (ii) un coefficient négatif signifie que l'intensité d'une des variables spectrales diminue alors que la seconde augmente avec l'évolution vers la surface (Noda and Ozaki, 2004). Les détails des choix de variables de perturbation et le choix de l'utilisation de deux matrices distinctes pour les fractions <20 µm du sol en forêt et cultivé sont disponibles en Annexe 4.

#### **2.2.6. Imagerie et cartographie chimique**

Environ 7 à 10 µL des fractions <20 µm des horizons 10-15 et 50-60 cm du sol en forêt et cultivé est déposé sur une surface de cuivre et séché à l'air. Ces échantillons sont imagés avec un microscope électronique à balayage (MEB-FEG ; Zeiss GeminiSEM 500). Des cartographies chimiques sont faites par la détection des électrons rétrodiffusés (interaction électron-noyaux permettant d'acquérir une image de contraste chimique) et par cartographie EDX (spectroscopie X à dispersion d'énergie ; Détecteur EDAX Octane SDD ; 129 eV de résolution). Pour chaque cartographie EDX, le temps de comptage est de ~30 min. La tension d'accélération du microscope est indiquée en dessous des images et des cartographies (variable en 5 et 15 kV).

## 2.3. Résultats et discussion

### 2.3.1. Perturbations physico-chimiques du sol *bulk*

Comparé au le sol en forêt, les analyses de concentrations en C sont inférieures dans le sol cultivé sur l'horizon 0-30 cm (Figure 1). Plus en profondeur, cette différence est faible. Le stock de C perdu dans l'horizon 0-30 cm, est de  $72 \text{ kgC.m}^{-2}$ , une baisse équivalente à -54% du stock de C sur cet horizon. Bien que cette diminution soit forte, elle est cohérente avec les données de la littérature (Guo and Gifford, 2002). Aussi, cette baisse de C s'est accompagnée d'une baisse de pH d'environ 1 unité sur le 0-30 cm (Figure 1). Comme pour les analyses de C, la différence de pH n'est plus visible en dessous de 30 cm de profondeur. Pour les deux sols, les minéraux primaires sont composés de plagioclase (andésine/anorthite), quartz, tridymite, titanomagnétite et orthopyroxène (Figure 2). Les minéraux secondaires sont composés de gibbsite et les diffractogrammes comportent des bandes de diffusion potentiellement issues de phases mal cristallisées ou amorphes. Excepté une plus forte intensité du pic de gibbsite sur les 0-50 cm du sol en forêt, le système minéral est resté similaire entre les deux sols. Nous supposons que les différences de conditions physico-chimiques (concentration en C et pH) sont causées par la mise en culture. Ces changements de conditions physico-chimiques, bien que souvent retrouvées dans la littérature suite à une mise en culture, ne sont pas à ce jour clairement expliqués (Bailey et al., 2019).

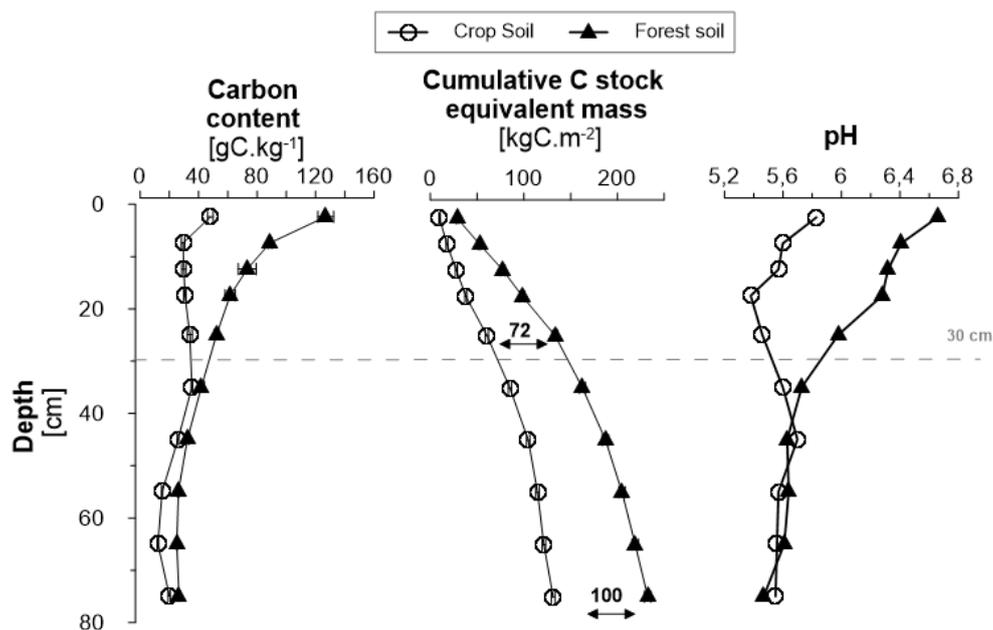


Figure 1. Analyse de C et de pH du profil de sol en forêt et cultivé. pH mesuré dans de l'eau. Les barres d'erreurs des données C sont issues de 3 répétitions analytiques. La différence de stock de C est de  $72 \text{ kgC.m}^{-2}$  sur l'horizon 0-30 cm et de  $100 \text{ kgC.m}^{-2}$  sur l'horizon 0-80 cm.

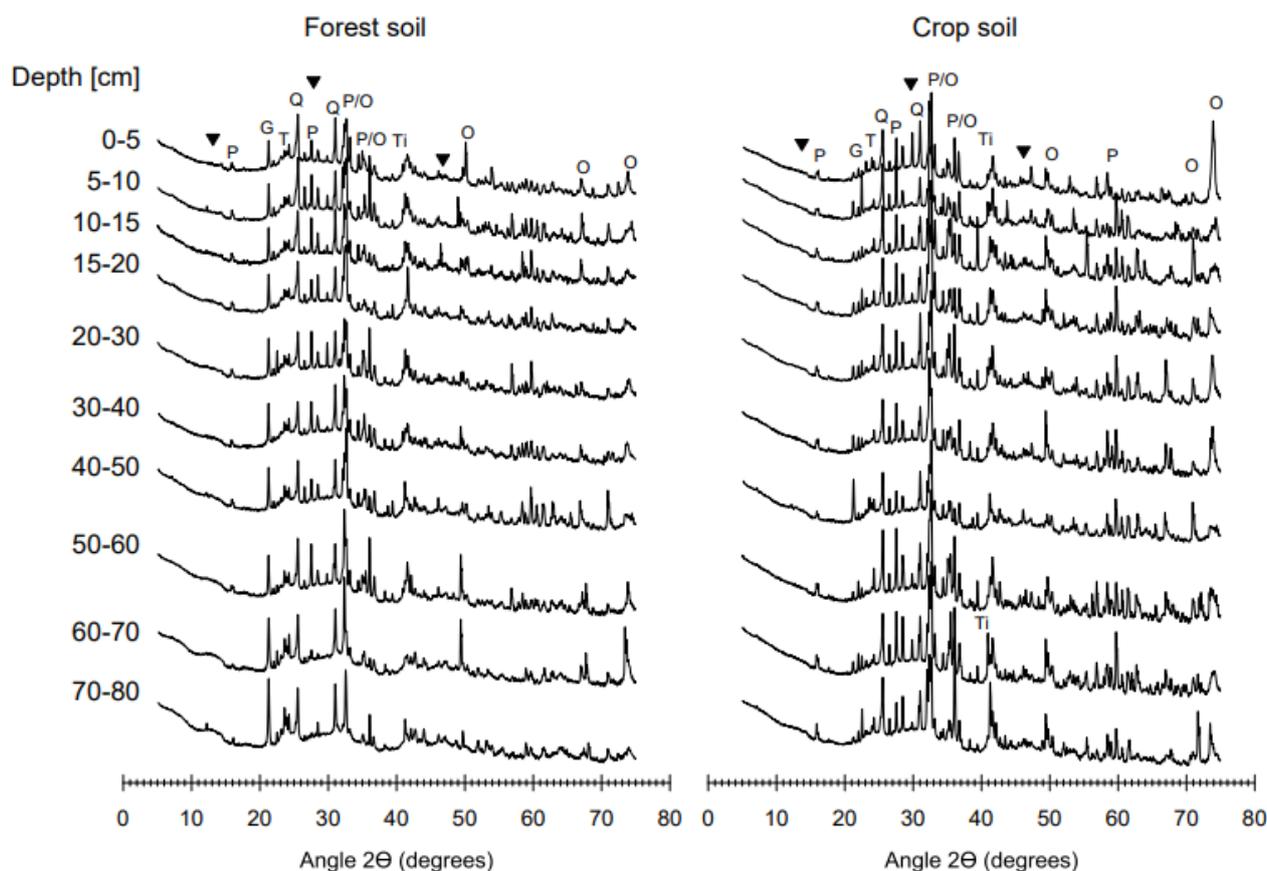


Figure 2. Minéralogie par DRX du sol en forêt et cultivé. Représentation en échelle logarithmique de base 10. Les phases minérales des diffractogrammes sont attribuées comme suit : plagioclase (P), orthopyroxène (O) gibbsite (G), tridymite (T), quartz (Q), titanomagnetite (Ti). Les bandes de diffusion sont attribuées à des phases mal-cristallisés ou amorphes (▼).

Les extractions par dithionite-citrate (DCB), oxalate d'ammonium-acide oxalique (AOD) et pyrophosphate ont pour but d'extraire respectivement (i) certains minéraux cristallisés et mal cristallisés (pour exemple : goethite, hématite, ferrihydrite, etc., Rennert, 2018); (ii) les minéraux mal-cristallisés (pour exemple : ferrihydrite, alluminosillates mal-cristallisés, allophane et imogolite ; Rennert, 2018) et (iii) les cations métalliques et les oxydes métalliques liés aux MO (Rennert, 2018). Ces extractions, bien qu'approximatives, reflètent un gradient de stabilité des éléments issus de l'altération des minéraux primaires dans les sols. Les quantités de Fe et d'Al extraits par DCB dans le sol cultivé sont plus faibles que dans le sol en forêt sur l'ensemble du profil de sol (Figure 3). Ces différences par DCB entre les deux sols, de respectivement de  $13 \pm 5$ , et  $3 \pm 1$  %, sont constantes sur l'ensemble du profil de sol. Ces différences ne semblent pas refléter la dynamique de changement des conditions physico-chimiques sur le 0-30 cm par la mise en culture. Elles pourraient être davantage liées à des différences d'évolutions pédologiques entre les deux sols. Les quantités d'Al, de Fe et de Si extraits par AOD ont peu de différences entre le sol en forêt et cultivé. Aucun impact de la mise en culture n'est interprété pour cette extraction. En revanche, les quantités d'Al, de Fe et de Si extraits par

pyrophosphate sont moins importantes pour le sol cultivé sur le 0-30 cm que pour le sol en forêt. Cette tendance est similaire à celle de la concentration en C et du pH (corrélation linéaire du C et des éléments extraits par pyrophosphate ;  $R^2 = 0.84$  à  $0.91$  suivant les éléments). Même si ces extractions sont approximatives, la perte d'Al, de Fe et plus faiblement de Si pourraient résulter d'une perte d'Al et de Fe initialement présents dans des coprécipités ou des complexes avec les MO.

Pour conclure, la mise en culture de cet andosol a eu un impact jusqu'à 30 cm de profondeur sur la quantité de C, le pH et la quantité de Fe, Al et Si coprécipités ou complexés avec les MO. Ces observations nous ont poussé à étudier les mécanismes d'associations de ces coprécipités ou complexes de Fe, Al, Si et C dans les deux profils de sols.

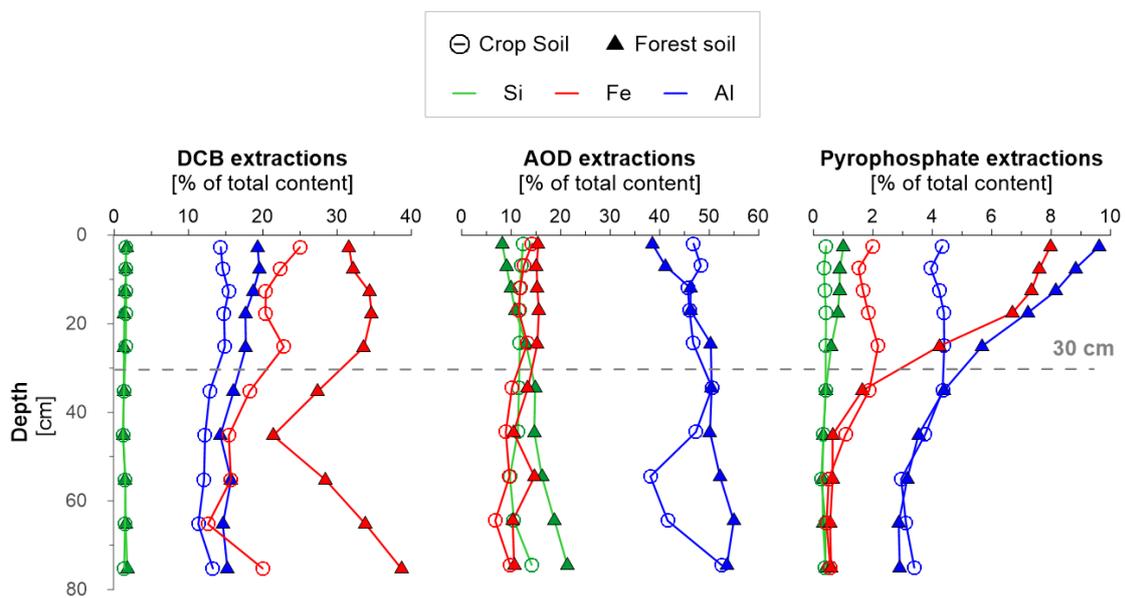


Figure 3. Extractions de Fe, Al et Si par dithionite-citrate (DCB), par oxalate d'ammonium-acide oxalique (AOD) et par pyrophosphate dans le sol en forêt et cultivé. Les données sont exprimées en pourcentage de Fe, Al et Si total extraits par acide hydrofluorique et peroxyde de sodium. Toutes les données sont accessibles en Annexe 1.

### 2.3.2. Une perte de C coprécipité avec de l'Al, du Si et du Fe

Afin d'isoler ces coprécipités ou complexes sans les fragiliser, une approche par fractionnement humide sans ajout de dispersant a été choisie. Le rendement massique des fractionnements des sols est de 88 à 103 % et le rendement de C est de 75 à 124 % (données accessibles en Annexe 5).

Ces fractionnements mettent en évidence une différence de répartition massique entre les fractions  $>100 \mu\text{m}$  et  $< 20 \mu\text{m}$  du sol en forêt et cultivé (Figure 4A). Comparé au sol en forêt, la concentration en C des fractions  $>100 \mu\text{m}$  sur le 0-10 cm est inférieure pour le sol cultivé (Figure 4B). Les fractions  $<20 \mu\text{m}$  ont aussi une concentration en C plus faible dans le sol cultivé sur le 0-20 cm. Ces données, exprimées en proportion de C dans les différentes fractions de sol ou en stock de C perdu (Figure 4C), mettent en évidence une perte de C du sol cultivé sur le 0-30 cm et dans les fractions  $<20 \mu\text{m}$ . Ces fractions  $<20 \mu\text{m}$  montrent non seulement une diminution du pourcentage massique de la fraction, mais aussi une diminution de leur concentration en C. Ces fractions  $<20 \mu\text{m}$ , concentrent les MAOM (Cotrufo et al., 2019; Lavalée et al., 2020b), qui semblent donc fragilisées par la mise en culture. La fraction  $>100 \mu\text{m}$  a aussi une perte de stock de C sur le 0-10 cm, assimilables à des POM (Cotrufo et al., 2019; Lavalée et al., 2020b). Suivant les calculs du stock de C perdu (Figure 4C), les MAOM sont quantitativement plus impactées par la mise en culture jusqu'à 30 cm de profondeur.

L'analyse de la minéralogie, par DRX, des fractions issues des horizons 10-15 et 50-60 cm des deux sols, comportent des différences inter-fractions (Figure 5). Pour les deux horizons et les deux sols, les diffractogrammes des fractions  $<20 \mu\text{m}$  ont de faibles pics de diffractions, comparés aux fractions plus grossières. Seuls les pics attribués à la gibbsite, tridymite et au quartz restent visibles. De larges bandes de diffusion autour de 7, 13, 21-37 et 41-48° sont fortement détectées dans les fractions  $<20 \mu\text{m}$  et sont associées à des phases mal-cristallisées ou amorphes. A l'inverse, les diffractogrammes des fractions  $>100 \mu\text{m}$  comportent de nombreux pics de diffractions et peu de bande de diffusion. Les diffractogrammes des fractions 20-100  $\mu\text{m}$  ont une minéralogie intermédiaire, avec de nombreux pics de diffractions mais aussi des bandes de diffusion. Comparativement aux autres fractions plus grossières, les fractions  $<20 \mu\text{m}$  semblent donc concentrer des minéraux mal-cristallisés ou amorphes aux rayons X.

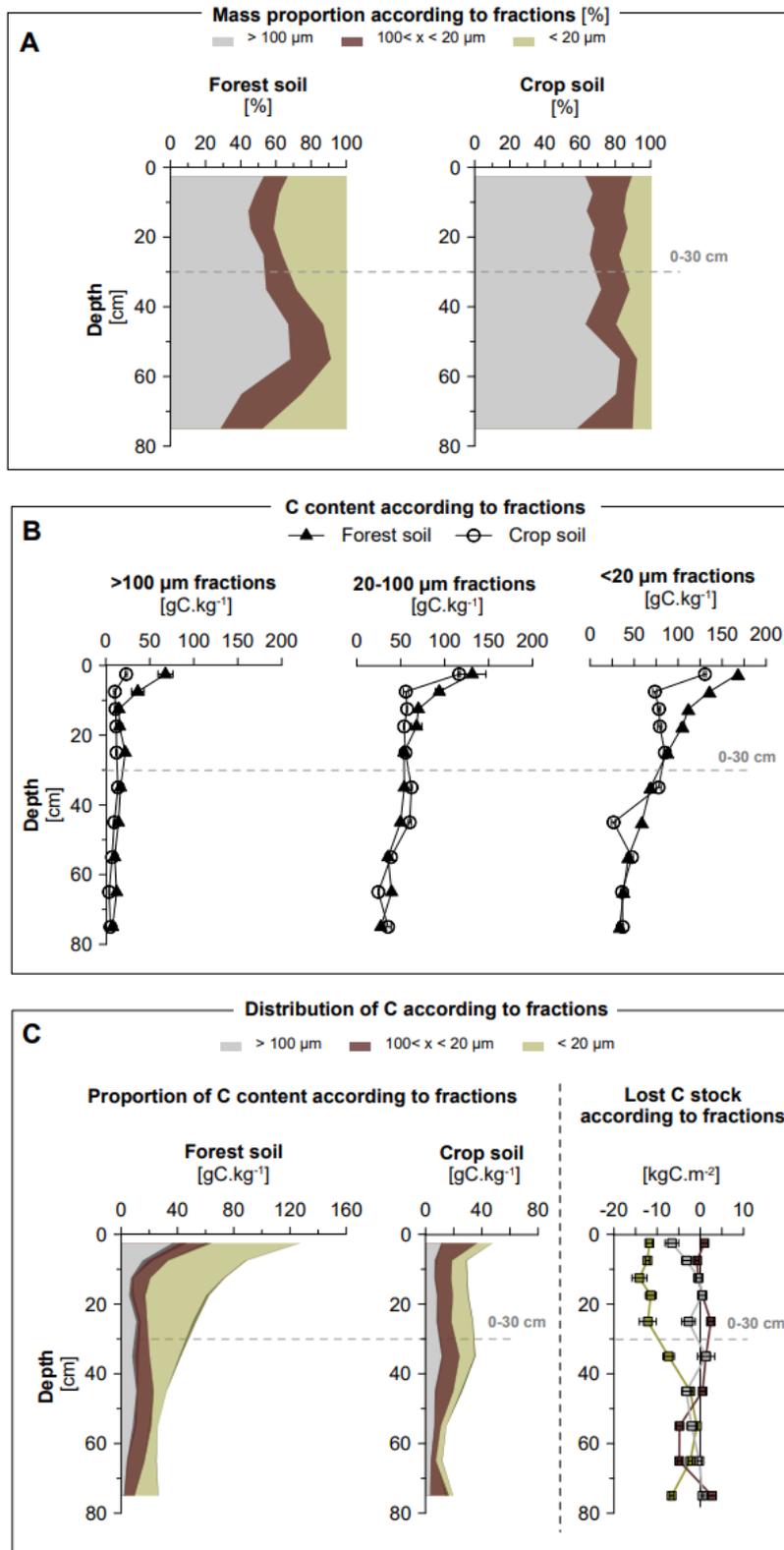


Figure 4.. Distribution massique et répartition du C dans les fractions du sol en forêt et cultivé. (A) la répartition massique des sols fractionnés. (B) La concentration en C mesurée pour chaque fraction. La barre d'erreur est l'écart-type de trois répétitions analytiques. (C) Les proportions de C dans chaque fraction sont figurées par les couleurs pour chaque horizon. La couleur accentuée est issue de la propagation de l'erreur analytique du dosage C. Le stock de C perdu est issu de la soustraction du stock de C, par fraction, du sol en forêt par celui du sol en culture. Les barres d'erreurs sont issues de la propagation de l'erreur analytique du dosage C.

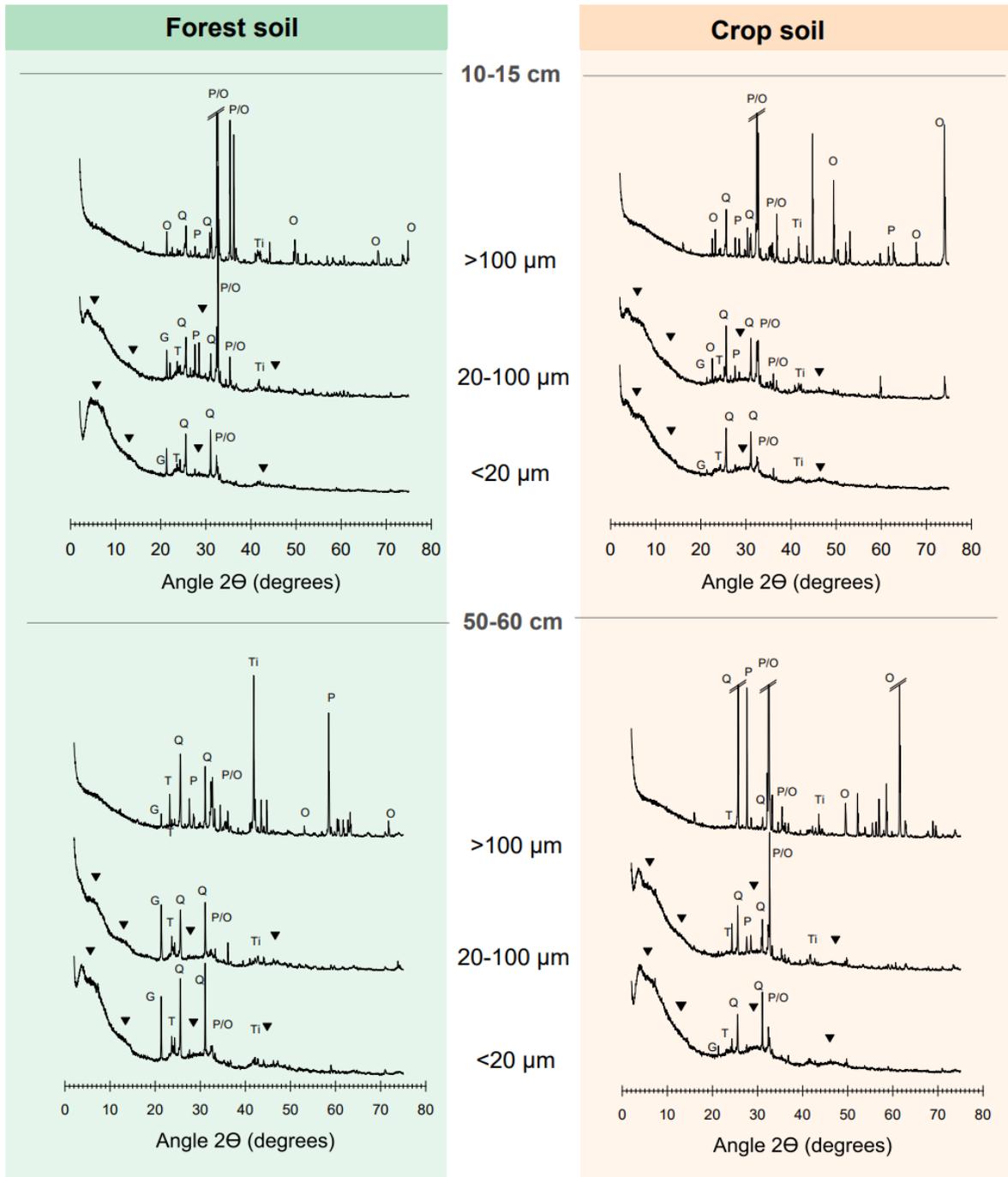


Figure 5. Minéralogie par DRX des fractions du sol en forêt et cultivé (horizons 10-15 cm et 50-60 cm). Représentation en échelle linéaire. Les phases minérales détectées sont attribuées comme suit : plagioclase (P), orthopyroxène (O) gibbsite (G), tridymite (T), quartz (Q), titanomagnetite (Ti) et des bandes de diffusion (▼) attribuées à des phases mal-cristallisés ou amorphes.

A la suite de ces observations, les fractions <20 µm de l'horizon 10-15 cm sont imagées et les éléments sont cartographiés chimiquement par la détection des électrons rétrodiffusés (Annexe 5) et par MEB-EDX (Figure 6 et 7). L'analyse chimique par électrons rétrodiffusés a mis en évidence des fractions <20 µm chimiquement assez homogènes pour les deux sols (Annexe 5). Ensuite des cartographies chimiques par MEB-EDX ont été réalisées à l'échelle de ~50x50 µm (Figure 6). La cartographie du sol en forêt a montré une répartition du C assez homogène dans la fraction. Ce C est colocalisé avec de l'Al et du Si (Figure 6-zone 2). D'autres zones, riches en Si avec peu d'Al et de C sont analysées (Figure 6-zone1). La cartographie du sol cultivé a aussi montré une détection de C réparti dans la fraction, mais sa détection est beaucoup plus faible (Figure 6-zone 3). Le C est aussi colocalisé avec de l'Al et du Si. Dans le sol en forêt, la cartographie à l'échelle de ~10x10 µm (Figure 7), a permis d'identifier que les zones comportant du C, Al et Si ont aussi un peu de Fe, Cl et Ca (Figure 7-zone 1). Aussi, une zone riche en Si et Al mais pauvre en C est identifiée (Figure 7-zone 2). Dans la cartographie à échelle de ~10x10 µm du sol cultivé, le C était plus faiblement détecté (Figure 7-zone 3). Il est colocalisé avec de l'Al et du Si mais aussi un peu de Cl, Ca, Fe. Ainsi ces analyses suggèrent que le C est globalement colocalisé avec de l'Al, du Si et un peu de Fe, Cl et Ca (Figure 7). Ces observations sont faites dans le sol en forêt, comme pour le sol cultivé, mais la détection du C est faible dans le sol cultivé.

Pour conclure, par la détection d'une colocalisation de C, d'Al et de Si à l'échelle du micromètre<sup>c</sup> et suivant de précédentes études sur les fractions fines d'andosol (Levard et al., 2012), nous supposons que les fractions <20 µm isolent, en majorité du C plutôt sous forme de coprécipités contenant de l'Al et du Si.

Aussi, puisque le C perdu par la mise en culture se situe dans les fractions <20 µm, la perte de C peut être associée à une perte de C coprécipité et à une possible déstructuration partielle de ces coprécipités. Ces coprécipités pourraient avoir deux changements : une perte de quantité de coprécipités (reflétée par les fractionnements massiques et les extractions par pyrophosphates), mais aussi une baisse de concentration de C (reflétée par le dosage C des fractions et par la difficulté de détection du C des fractions du sol cultivé par MEB-EDX).

---

<sup>c</sup> Aussi, le Chapitre 3 de cette thèse comporte des observations et des cartographies chimiques par TEM-EELS de ces fractions fines jusqu'aux échelles nanométriques. Ces résultats montrent une colocalisation de C, Al et Si jusqu'à 10 nm. Pour ce manuscrit de thèse, nous avons choisi de montrer les résultats MEB-EDX dans le Chapitre 1 et d'analyser de manière plus détaillée les nano-phases détectées par TEM en Chapitre 3.

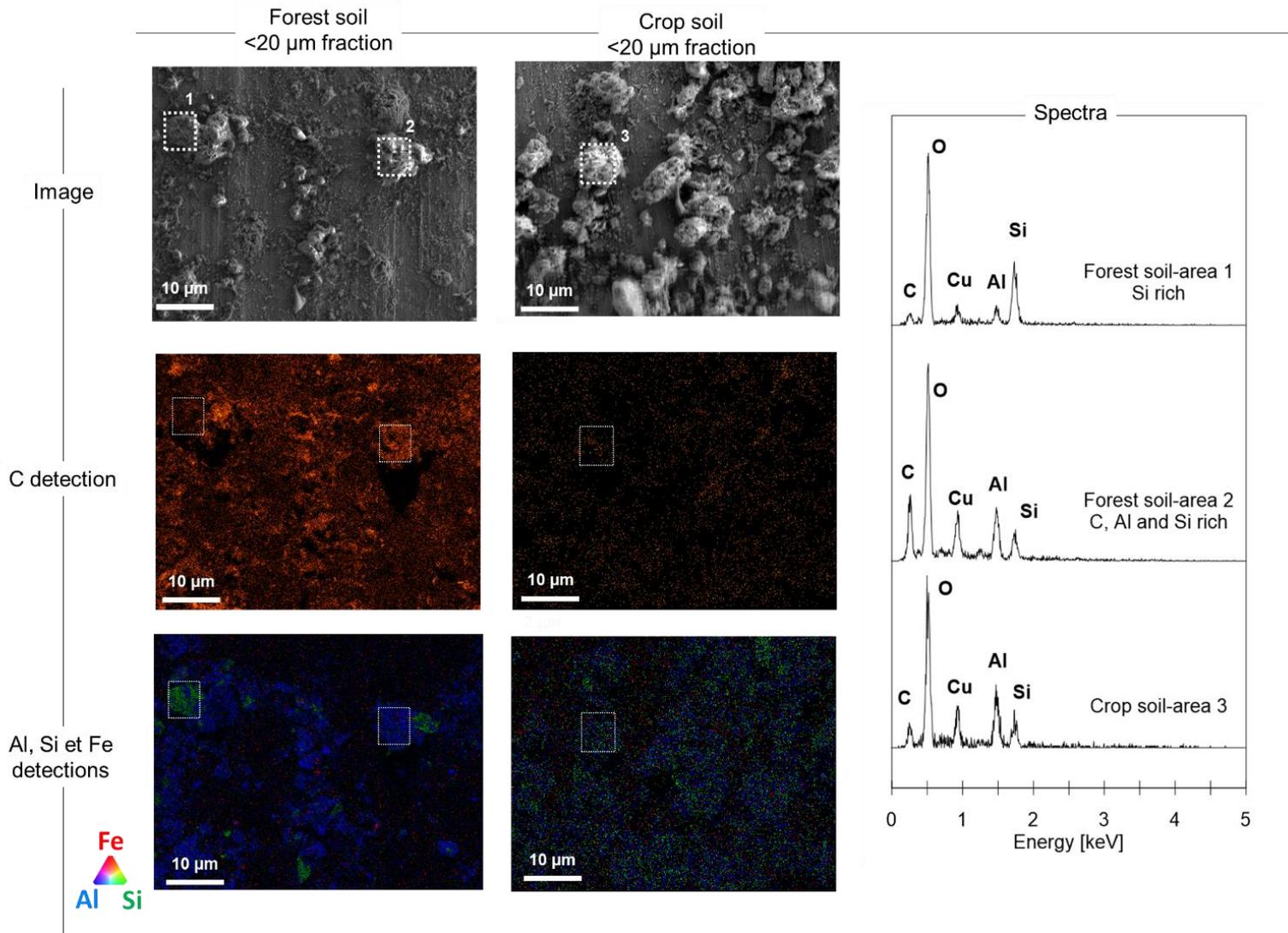


Figure 6. Imagerie et cartographies chimiques par MEB-EDX des fractions  $<20\ \mu\text{m}</math> du sol en forêt et cultivé. Les cartographies sont réalisées sur l'horizon 10-15 cm des deux sols. Cartographies à l'échelle de  $\sim 50 \times 50\ \mu\text{m}$ . Analyses effectuées à 5 kV.$

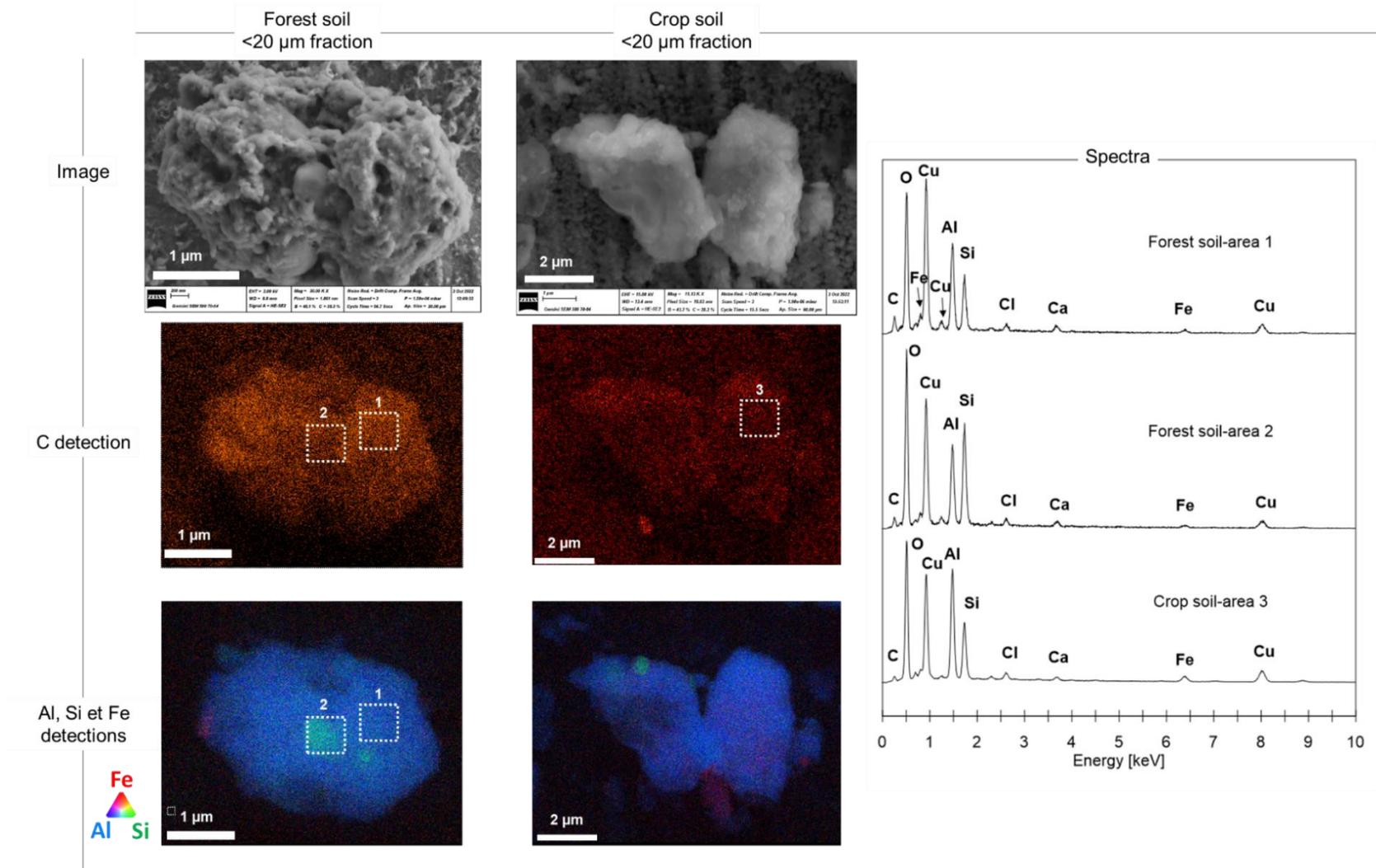


Figure 7. Imagerie et cartographies chimiques par MEB-EDX des fractions <20 μm du sol en forêt et cultivé. Les cartographies sont réalisées sur l'horizon 10-15 cm des deux sols. Cartographies à l'échelle de ~10x10 μm. Analyses effectuées à 15 kV. Le Cu détecté dans toutes les analyses provient du support d'observation.

### 2.3.3. Analyse de l'ordre minéralogique des coprécipités

Afin d'acquies plus de détails sur les bandes de diffusion détectées par DRX aux bas angles ( $<20^\circ$ ), les fractions  $<20\ \mu\text{m}$  ont été analysées de nouveau par DRX en abaissant le faisceau direct (méthode 2.2.4 ; Figure 8). Au bas angles, les diffractogrammes des fractions  $<20\ \mu\text{m}$  ont deux bandes de diffusion principales : autour de  $4.5^\circ$  et  $7^\circ$  soit 23 et 15 Å. Dans la littérature, des phases peu ou mal-cristallisées peuvent être détectées aux bas angles comme (i) des imogolites, qui se différencient par un pic caractéristique à 20 Å (Levard et al., 2012) ou bien (ii) des proto-imogolites qui ont une large bande de diffusion autour de 13 à 15 Å (Levard et al., 2012; Du et al., 2017).

Afin d'avoir des références de coprécipités dans lesquels le C est lié à des éléments amorphes, des coprécipités-nanoCLICs ont été synthétisés et analysés par DRX (Figure 9). Ces diffractogrammes ont des bandes de diffusion autour de  $4.5^\circ$  et  $7^\circ$ , soit 23 et 13 Å. Mais les nanoCLICs pauvres en C ont des bandes de diffusion à  $4.5^\circ$  et  $7^\circ$  plus intenses que les nanoCLICs riches en C. Il est possible que ces bandes de diffusion ne soient pas induites par les éléments inorganiques liés au C, mais par la coprécipitation sans C formant des phases mal-cristallisées. La technique de diffraction par DRX est adaptée pour détecter les distances inter-réticulaires entre deux plans cristallographiques. La détection des phases mal-cristallisées ou amorphes par cette technique est donc peu adaptée. Néanmoins, suivant les analyses effectuées, nous supposons que les bandes de diffusion autour de  $4.5^\circ$  et  $5^\circ$  sont induites davantage par des éléments inorganiques mal-cristallisés et non des éléments inorganiques coprécipités avec le C dans les coprécipités-nanoCLICs.

Dans les fractions  $<20\ \mu\text{m}$  étudiées, les bandes de diffusion autour de  $4.5^\circ$  et  $7^\circ$  ont tendance à être moins intenses en surface qu'en profondeur pour les deux sols (Figure 8). En profondeur, l'Al, le Si et le Fe issu de l'altération minérale est susceptible de coprécipiter avec peu de C dans la solution du sol. Alors qu'en surface l'Al, le Si et le Fe issu de l'altération minérale est susceptible de coprécipiter avec plus de C dans la solution du sol. Il est donc possible que l'intensité des bandes de diffusions autour de  $4.5^\circ$  et  $7^\circ$  diminue vers la surface à cause d'un arrangement différent entre les éléments Al, Si et Fe en présence de C. Passant d'un arrangement plutôt mal-cristallisé en profondeur à amorphe en surface. Les observations de microscopie par MEB ont montré que les fractions provenant des horizons 50-60 cm comportent beaucoup d'objets fibreux associés à des groupements d'imogolites (Annexe 5). Ces objets n'ont pas ou peu été remarqués dans les horizons 10-15 cm du sol en forêt et cultivé. Il est donc possible que ces groupements d'imogolites soit responsables de la diffraction sous forme de bandes de diffusion aux bas angles par DRX. Aussi, ces bandes de diffusion sur le 0-30 cm semblent moins intenses dans le sol en forêt que dans le sol cultivé. Il est alors possible que le sol en forêt comporte plus d'éléments inorganiques ayant un arrangement amorphe (coprécipités de C, Al et Si) alors que le sol en culture, ayant perdu une partie des coprécipités, serait plus concentré en phases mal-cristallisés.

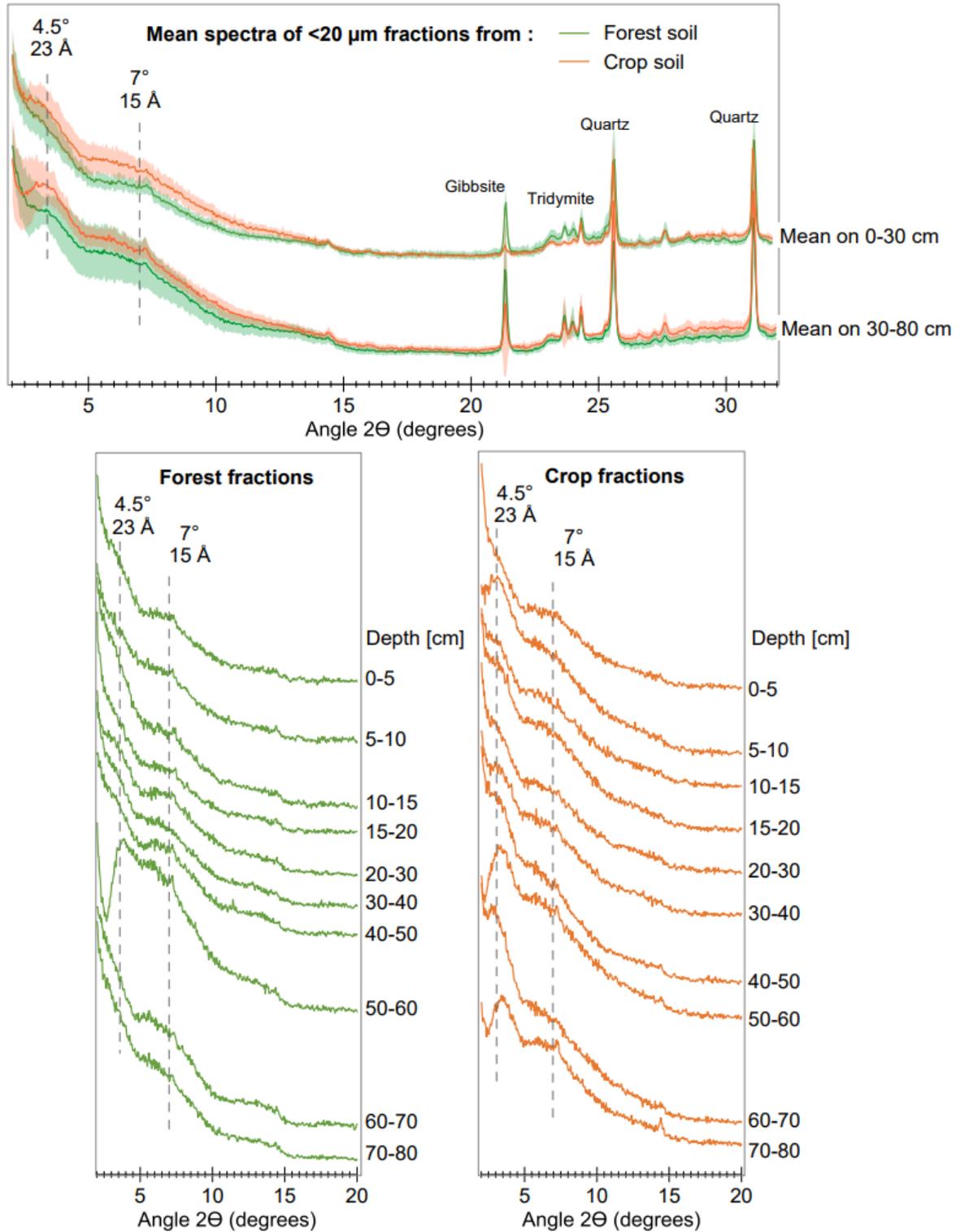


Figure 8. Diffractogrammes des fractions <20 μm par DRX du sol en forêt et cultivé. Représentation en échelle linéaire. Afin d'acquérir plus de détails aux bas angles, les canaux de détection et les fentes sont adaptés (voir détail en méthode 2.2.4.). Les moyennes sur le 0-30 et 30-80 cm comprennent 5 profondeurs. Les bandes de couleurs plus claires représentent l'écart-type de ces moyennes.

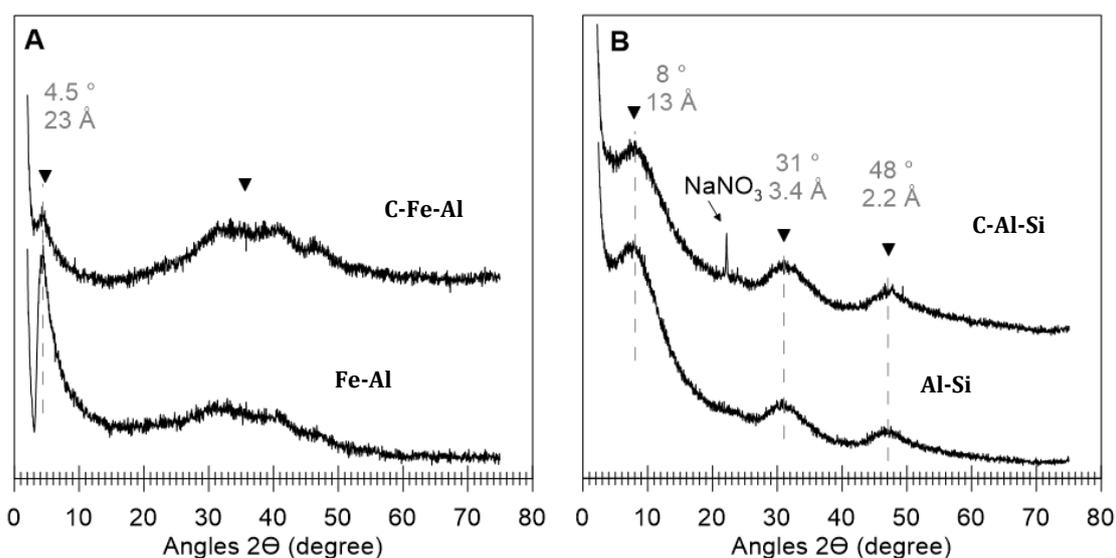


Figure 9. Diffractogrammes des coprécipités-nanoCLICs avec et sans C par DRX. Représentation en échelle linéaire. Les nanoCLICs C-Al-Fe et Al-Fe sont figurés en (A) et les nanoCLICs C-Al-Si et Al-Si sont figurés en (B). Les nanoCLICs C-Fe-Al et C-Al-Si comportent du C sous forme de L-DOPA (concentration de  $\sim 7.5 \text{ gC.100g}^{-1}$ ). Les nanoCLICs sans C comportent tout de même une faible quantité de C résiduel issu des minéraux (concentration de 0.4 à  $1 \text{ gC.100g}^{-1}$ ).

### 2.3.4. Analyse des liaisons organiques et inorganiques des coprécipités

Afin d'étudier les liaisons chimiques des coprécipités, les fractions  $<20 \mu\text{m}$  des deux sols ont été analysées par moyen infra-rouge (MIR). Les spectres MIR obtenus sont très similaires pour le sol en forêt et cultivé (Figure 10A ; Annexe 6). Les liaisons inorganiques détectées à 3620, 3535, 2000 et 1870 et de  $\sim 1050$  à  $650 \text{ cm}^{-1}$  sont attribuées à des proto-imogolites, imogolites, allophanes, tridymite, quartz et gibbsite (attribution des liaisons en Tableau 1 ; détails en Annexe 6). Les liaisons organiques détectées entre 1725 et  $1100 \text{ cm}^{-1}$  sont nombreuses et peuvent être attribuées à des composés aliphatiques, aromatique, aryle éthers, phénolique, carbonyle, amide, ester et carboxyle (Tableau 1, Parikh et al., 2014, Annexe 6). Cependant, l'attribution des liaisons MIR dans des matrices complexes comme les sols est difficile car de nombreuses liaisons vibrent sur des nombres d'ondes similaires (Parikh et al., 2014).

Afin de détecter seulement les liaisons impliquées dans la stabilisation du C dans les fractions  $<20 \mu\text{m}$  du sol en forêt et du sol cultivé, nous avons réalisé des modélisations par *partial-least-square regression* (PLSR) de la concentration en C (Figure 10B). Un coefficient  $\beta^d$  positif signifie que ce nombre d'onde contribue à la modélisation de la concentration en C (e.g. corrélation linéaire de l'intensité du signal avec l'augmentation de la concentration en C), et au contraire un coefficient négatif signifie une anti-

<sup>d</sup> Comme expliqué par Baldock et al., 2013, un modèle PLSR prendre la forme de l'équation suivante avec  $y$ , la valeur mesurée (ici la concentration en C),  $\beta_0$ , un coefficient,  $\beta_1-\beta_n$ , les coefficients  $\beta$  associé aux nombres d'ondes  $x_1-x_n$  du spectre MIR et  $\varepsilon$  un terme d'erreur associé :

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_x x_x + \varepsilon$$

corrélation de ce nombre d'onde à la concentration en C. Mais l'importance du nombre d'onde dans la modélisation est le produit de l'intensité du coefficient  $\beta$  et de l'intensité spectrale du nombre d'onde donné (Baldock et al., 2013b). Dans les modèles PLSR des fractions <20  $\mu\text{m}$  du sol en forêt et cultivé, les coefficients  $\beta$  sont différents suivant de sol analysé :

- Le modèle des fractions <20  $\mu\text{m}$  du sol en forêt comporte un coefficient  $\beta$  positif principalement pour les nombres d'ondes autour de 2930, 2850, entre 1725 et 1200 et autour de 1100  $\text{cm}^{-1}$ . Ces nombres d'ondes peuvent être attribués à des liaisons organiques : C=O carbonyle, cétone, aldéhyde, amide et quinone ; C-O carboxylate, phénol et ester ; C-H aliphatique ; C=C aromatique ; N-H et C=N amide ; C-O-C ester ; C-O-H de composés de polysaccharides (Parikh et al., 2014; Tableau 1). Les coefficients  $\beta$  des nombres d'ondes associés aux liaisons Si-O, Al-O(H), Si-O-Al, Si-O-Si ou O-H de la gibbsite, des imogolites ou des proto-imogolites sont négatifs ou nuls, suggérant une non-contribution positive de ces phases à la modélisation de la concentration du C.
- Dans le modèle des fractions <20  $\mu\text{m}$  du sol cultivé, seuls les nombres d'ondes attribuables aux MO autour de 2930, 2850, 1725, 1510 et 1100  $\text{cm}^{-1}$  ont un coefficient  $\beta$  positif. Ces nombres d'ondes peuvent être attribués à des liaisons organiques de types : C-H aliphatique ; C=O carbonyle , C=C aromatique, C-O-C ester ; C-O-H de composés de polysaccharides (Parikh et al., 2014). Contrairement au modèle du sol en forêt, les fractions <20  $\mu\text{m}$  du sol cultivé ne comportent pas les nombres d'ondes autour de 1600  $\text{cm}^{-1}$  et de 1460 à 1220  $\text{cm}^{-1}$ . Ces nombres d'ondes absents du modèle du sol cultivé peuvent être associés aux liaisons : C=C aromatique, C-O carboxylate, phénolique, carboxylique et ester ; C=O cétone et N-H et C=N amides (Parikh et al., 2014). Certains nombres d'onde ont un coefficient  $\beta$  légèrement positif autour de 3535  $\text{cm}^{-1}$  associé à la gibbsite et autour de 890  $\text{cm}^{-1}$  associé à la gibbsite, du quartz ou de la Si amorphe (Tableau 1). Ce qui suggère une implication faible mais présente de ces phases ou minéraux à la modélisation de la concentration du C.

Même si les deux modèles PLSR ont été considérés comme « excellents » (RPI et RDQI > 3.6; voir méthode 2.2.5), le modèle sur sol cultivé semble moins bien modéliser les liaisons MIR attribuées aux C que celui du sol en forêt. Malgré cette différence de qualité des deux modèles, nous supposons que (i) les fractions <20  $\mu\text{m}$  du sol cultivé ont une perte de diversité de MO par comparaison au modèle du sol en forêt, (ii) et que le modèle du sol en forêt ne modélise pas de liaison inorganique. Il se peut que la modélisation des liaisons inorganiques liées au C ne soit pas possible en utilisant des modèles PLSR ou bien que les liaisons inorganiques liées au C ne soient pas détectables par MIR sur la gamme 6000-600  $\text{cm}^{-1}$ .

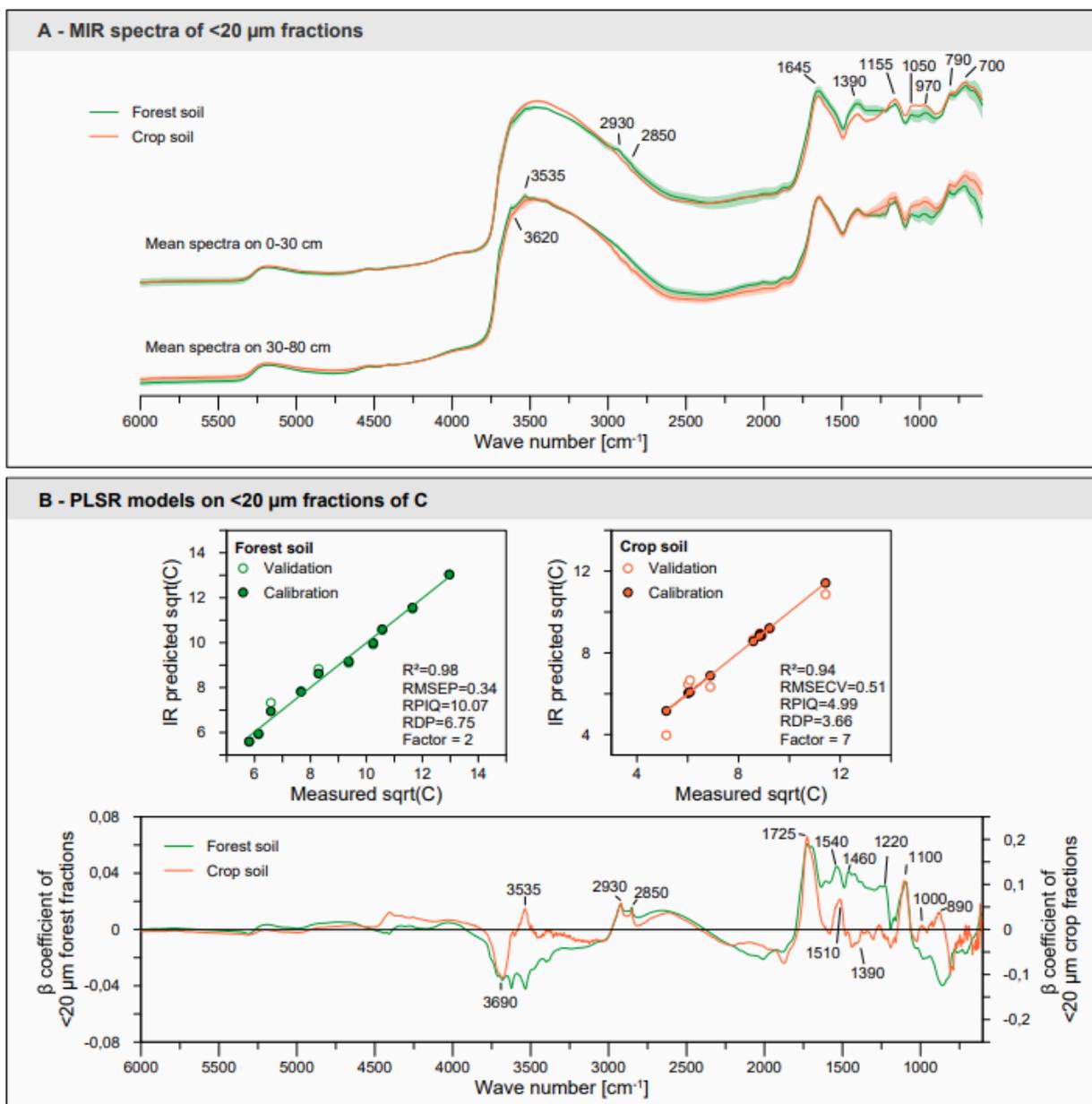


Figure 10. Spectres MIR (A) et modélisation PLSR de la concentration en C (B). Les moyennes sur le 0-30 et 30-80 cm comprennent 5 profondeurs (A). Les bandes de couleurs plus claires représentent l'écart-type de ces moyennes. L'attribution des nombres d'ondes est résumée en Tableau 1. Tous les spectres sont visibles en Annexe 6. Les modèles PLSR des fractions <20  $\mu\text{m}$  du sol en forêt et cultivé modélisent la racine carrée de la concentration en C ( $\text{sqrt}(C)$  ; détail en méthode 2.2.5). Ces deux modèles ont RPI et RDQI > 3.6.

Tableau 1. Attribution des nombres d'ondes détectés par MIR par une analyse bibliographique. L'attribution des liaisons est faite en fonction du contexte de l'étude.

Wavenumber [cm <sup>-1</sup> ]	Interpretation	Bibliographic references
3800 to 2800	O-H stretching of adsorbed water	Gustafsson et al., 1999
3620	O-H stretching 1:1 clays group, gibbsite and oxy-hydroxydes	Gustafsson et al., 1999; Zysset et al., 1999; Madejová, 2003
3540	O-H vibration of clays	Gustafsson et al., 1999; Madejová, 2003
3535	O-H vibration of gibbsite	Parikh et al., 2014
2930	C-H aliphatic stretch	Janik et al., 2007; Parikh et al., 2014; Baldock et al., 2019;
2860		
2000	Si-O vibration of quartz	Guillou et al., 2015; Terra et al., 2015; Sila et al., 2016
1870		
1725-1720	C=O of carbonyl and carboxylic stretch	Parikh et al., 2014
1645	O-H stretching of organic matter from 1650 to 1400 cm <sup>-1</sup>	Farmer et al., 1983; Inoue and Huang, 1984; Parfitt and Childs, 1983
	C=O of amide stretch and ketone, C=C of aromatic, C-O of carboxylate	
1390	C-O of carboxylate and carboxylic, C=C vibrations of aromatic structures, C-H of aliphatic	Janik et al., 2007 ; Lehmann and Solomon, 2010; Chen et al., 2014
1260	C-O of carboxylic stretch, C-O of aryl ethers, C-O of phenol	Rao, 1963, Tatzber et al., 2007, Parikh et al., 2014
1190	C-O-C stretch of phenol and ether, C-O stretch of OH deformation of COOH	Parikh et al., 2014
1155	Si-O vibration of quartz	Guillou et al., 2015; Terra et al., 2015; Sila et al., 2016
1100	C-O-C stretch of phenol and ether, C-OH of polysaccharides like compounds	Parikh et al., 2014
1050	Peak at 1050 cm <sup>-1</sup> could have been a slight shift of Si-O stretching of imogolite or proto-imogolite allophane depending of Al/Si ratio or allophane containing Al IV	Denaix et al., 1999
1030	Si(Al)-O stretching of allophane	Linder and Östlund, 1998
995-990	Si-O stretching of allophane, imogolite and aluminosilica	Wada and Harward, 1974; Inoue and Huang, 1984; Karlton et al., 2000
970 -960	Si-O stretching in orthosilicate, Si-O-Al of proto-imogolite and Si-O of allophane	Wada and Harward, 1974; Parfitt et al., 1980; Linder and Östlund, 1998; Denaix et al., 1999; Levard et al., 2012
950	Si-O stretching of allophane	Wada and Harward, 1974
890	Al-OH bonds of clays, gibbsite and/or Si-O vibrations in quartz and amorphous silica	Terra et al., 2015
810	Si-O amorphous silica (vitreous silica and polymorphs silica)	Handke and Mozgawa, 1993
790	Si-O-Si of clay minerals and low crystalline tridymite.	Vogel et al., 2011; Terra et al., 2015
700	peaks ranging from 700 to 655 cm <sup>-1</sup> could be assigned to Si-rich allophane as well as imogolite and Type II allophane	Linder and Östlund, 1998; Parfitt, 1990; Karlton et al., 2000
655		

### 2.3.5. Des coprécipités nanoCLICs ?

Afin de mieux comprendre l'attribution des bandes de diffusion, aux bas angles, détectées par DRX aux signaux MIR, une corrélation statistique entre ces deux signaux a été faite pour les fractions <20 µm du sol en forêt et du sol cultivé indépendamment (Figure 11 ; choix détaillés en Annexe 4 ; méthode appelée « 2D synchronous hetero spectra correlation » ; Noda and Ozaki, 2004). Puisque les bandes de diffusion détectées par DRX (4.5 et 7°) ont tendance à être plus intenses en profondeur qu'en surface, ces deux matrices comportent la profondeur comme variable de perturbation (Annexe 4).

Cette corrélation a mis en avant deux résultats : (i) avec l'évolution vers la surface, les bandes de diffusion autour de 4.5 et 7° (par DRX) sont anti-corrélées aux nombres d'ondes impliqués dans la modélisation du C dans les modèles PLSR-MIR (c-à-d. les nombres d'ondes ayant un coefficient  $\beta$  positif en Figure 10). Cette anti-corrélation est faite pour le sol en forêt comme pour le sol cultivé. De plus, toutes les phases minérales détectées par DRX, c'est-à-dire aussi les quelques pics des minéraux gibbsite, tridymite et quartz n'ont pas montré de corrélation positive aux nombres d'ondes impliqués dans la modélisation du C. (ii) Le deuxième résultat de ce traitement statistique est que, avec l'évolution vers la surface, les bandes de diffusion détectées par DRX (4.5 et 7°) sont positivement corrélées aux signaux MIR attribués aux proto-imogolites, imogolites et allophanes. Pour le sol en forêt, cette corrélation est faite pour les nombres d'onde de 1050 à 600 cm<sup>-1</sup>, attribués aux proto-imogolites, imogolites et allophanes (Tableau 1). Pour le sol cultivé, cette corrélation est présente pour la partie 1000 à 600 cm<sup>-1</sup> mais également pour les nombres d'ondes de 2000 à 1800 cm<sup>-1</sup> et de 1300 à 1200 cm<sup>-1</sup>. Les nombres d'onde entre 2000 et 1800 cm<sup>-1</sup> peuvent être associés aux liaisons Si-O des silicates (Tableau 1).

De ces deux résultats, nous en déduisons que les bandes de diffusion par DRX sont associées à des minéraux mal-cristallisés de type imogolites, allophanes et proto-imogolites. Aussi, les traitements chimiométriques tendent à montrer que les minéraux mal cristallisés ne sont pas associés au C coprécipité. Suivant cette hypothèse, les éléments inorganiques coprécipités pourraient donc se différencier des minéraux mal-cristallisés tel que les imogolites, allophanes et proto-imogolites. En laboratoire, des synthèses de coprécipités comportant de l'Al, Si et Fe en présence de C ont montré un arrangement amorphe et un mélange entre éléments inorganiques et organiques jusqu'aux nano-échelles (Tamrat et al., 2019). Cette vision de la coprécipitation est appelée nanoCLICs (Nanosized Coprecipitates of inorganic oLigomers with organiCs ; Tamrat et al., 2019). Nous proposons alors que l'arrangement amorphe des éléments inorganiques avec le C soit possible par un mélange aux nano-échelles empêchant un début d'arrangement des éléments inorganiques en minéraux mal-cristallisés. Cette vision d'une coprécipitation plutôt de type nanoCLICs pourrait donc être à différencier d'une coprécipitation du C avec des mal-cristallisés dans les andosols (Figure 12).

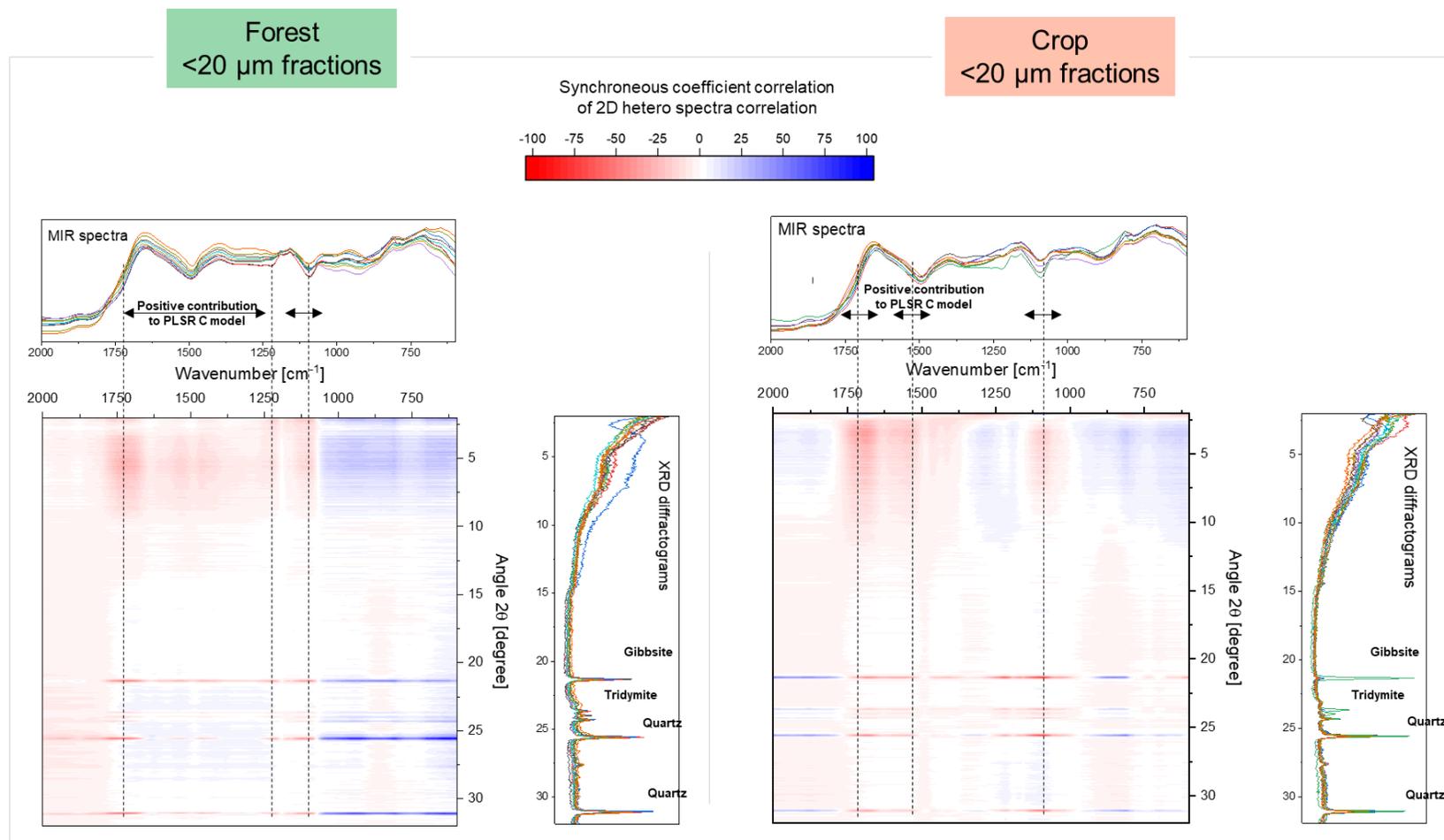


Figure 11. Corrélation des signaux de DRX et MIR des fractions <20 μm du sol en forêt et cultivé (*2D synchronous hetero correlation spectra*). Le coefficient de corrélation attribué reflète les corrélations et anti-corrélations entre les nombres d'onde MIR et les angles DRX en fonction de l'évolution vers la surface : (i) un coefficient positif signifie que l'intensité des deux variables spectrales augmente ou diminue avec l'évolution vers la surface (ii) un coefficient négatif signifie que l'intensité d'une des variables spectrales diminue alors que la seconde augmente avec l'évolution vers la surface (Noda et Ozaki, 2004). Détails en méthode 2.2.5 et en Annexe 4.

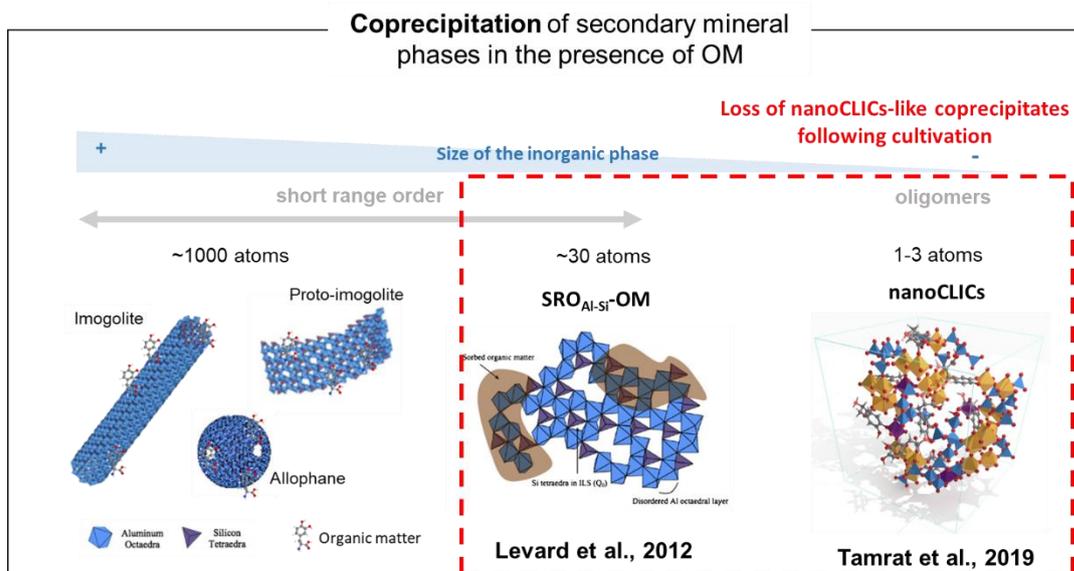


Figure 12. Représentation schématique d'un continuum des coprécipités ayant une taille variable de la phase inorganique coprécipitée avec les matières organiques : de mal-cristallisés (~1000 atomes) à des éléments amorphes « nanoCLICs » (~1-3 atomes). Les coprécipités avec des minéraux mal-cristallisés sont représentés par une imogolite, une allophane et une proto-imogolite car le cas d'étude est dans un andosol. Adaptés de Levard et al. 2012 et Tamrat et al. 2019.

Ainsi, les analyses par MIR, DRX et les traitements statistiques poussent à considérer qu'une grande partie du C des fractions fines du sol en forêt est sous forme de coprécipités plutôt de type nanoCLICs (Figure 12). Pour autant, la coprécipitation avec des éléments mal-cristallisés n'est pas totalement écartée mais jugée minoritaire. Néanmoins, cette interprétation est faite à la suite d'une non-corrélation des bandes de diffusion analysées par DRX et des nombres d'ondes attribués aux liaisons organiques analysées par MIR. Des observations directes sur les coprécipités devront confirmer ou non cette interprétation.

### 2.3.6. Une fragilisation de C coprécipité à la suite d'une mise en culture

Les résultats de la matrice de corrélation, entre les signaux de DRX et de MIR, du sol cultivé sont similaires à ceux du sol en forêt. Ainsi, nous supposons que le sol cultivé comporte du C coprécipité potentiellement sous forme nanoCLICs. Cependant puisque les modèles PLSR du sol en culture ont une contribution légèrement positive de certaines phases minérales (gibbsite, quartz ou Si amorphe), les mécanismes de stabilisation du C suite à la mise en culture reste à étudier. Nous supposons que la perte de C par la mise en culture soit associée à une perte de coprécipités-nanoCLICs. Et que les matières organiques perdues sont diverses (des composés aromatiques, phénoliques, carboxyliques, esters, cétones et amides).

La déstabilisation des coprécipités-nanoCLICs par la mise en culture pourrait être expliquée par deux hypothèses : (i) premièrement, en lien avec les changements de conditions physico-chimiques, reflétées par la baisse d'environ 1 unité pH sur le 0-30 cm (de ~6.3 à ~5.6). Les oligomères inorganiques amorphes dans les coprécipités-nanoCLICs

pourraient être solubilisés par la baisse de pH, et notamment l'Al (Lützenkirchen et al., 2014) et le Fe (Grundl and Delwiche, 1993). (ii) Aussi, l'adaptation de la communauté de micro-organismes aux fluctuations de pH et d'humidité pourrait entraîner une plus forte demande en C pour leur respiration (Tiemann and Billings, 2011; Malik et al., 2018) ou bien influencer la diversité de micro-organismes (Fierer, 2017; Tripathi et al., 2018). Ce qui *in fine*, pourrait faire évoluer la stabilité des coprécipités-nanoCLICs par la mise en culture.

## 2.4. Conclusion

Comparé à un andosol en forêt, la mise en culture d'un andosol a déstabilisé 56 % du stock de C sur le 0-30 cm. Le fractionnement des sols a mis en évidence une perte de C dans les fractions <20 µm majoritairement, attribué à du C coprécipité. Par analyses chimométriques des signaux DRX et MIR, le C coprécipité ne semble pas ou peu lié aux bandes de diffusion (analysées par DRX) attribuées à des minéraux mal-cristallisés. Il se pourrait que les éléments inorganiques liés au C soit amorphes aux rayons X. Cette caractéristique pourrait s'expliquer par une interaction entre des éléments inorganiques et organiques aux nano-échelles, appelée nanoCLICs (Nanosized Coprecipitates of inorganic oLligomers with organiCs ; Tamrat et al., 2019). Néanmoins, cette interprétation est faite par déduction des analyses statistiques et non pas une analyse directe des coprécipités. La perte de C dans les fractions <20 µm de sol cultivé pourrait être expliquée par la perte de coprécipités-nanoCLICs. Cette perte peut être expliquée par des changements de conditions physico-chimiques reflétées par une baisse de pH du sol.

L'approche chimométrique développée dans cette étude a permis de mettre en avant une différence de diversité de MO entre le sol en forêt et cultivé. Aussi, les mécanismes de stabilisation des MAOM ont pu être discuté à la suite des corrélations des signaux MIR et DRX. La chimométrie, grandement utilisée à des fins de prédictions, pourrait donc être aussi appliquée à des fins de compréhensions mécanistiques.

## 2.5. Références bibliographiques

- Asano, M., Wagai, R., Yamaguchi, N., Takeichi, Y., Maeda, M., Suga, H., Takahashi, Y., 2018. In Search of a Binding Agent: Nano-Scale Evidence of Preferential Carbon Associations with Poorly-Crystalline Mineral Phases in Physically-Stable, Clay-Sized Aggregates. *Soil Syst.* 2, 32. <https://doi.org/10.3390/soilsystems2020032>
- Bailey, V.L., Pries, C.H., Lajtha, K., 2019. What do we know about soil carbon destabilization? *Environ. Res. Lett.* 14, 083004. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/ab2c11>
- Baldock, J.A., Hawke, B., Sanderman, J., Macdonald, L.M., 2013a. Predicting contents of carbon and its component fractions in Australian soils from diffuse reflectance mid-infrared spectra. *Soil Res.* 51, 577–595. <https://doi.org/10.1071/SR13077>
- Baldock, J.A., Hawke, B., Sanderman, J., Macdonald, L.M., 2013b. Predicting contents of carbon and its component fractions in Australian soils from diffuse reflectance mid-infrared spectra. *Soil Res.* 51, 577–595. <https://doi.org/10.1071/SR13077>

- Baldock, J.A., McNally, S.R., Beare, M.H., Curtin, D., Hawke, B., Baldock, J.A., McNally, S.R., Beare, M.H., Curtin, D., Hawke, B., 2019. Predicting soil carbon saturation deficit and related properties of New Zealand soils using infrared spectroscopy. *Soil Res.* 57, 835–844. <https://doi.org/10.1071/SR19149>
- Barnes, R.J., Dhanoa, M.S., Lister, S.J., 1989. Standard Normal Variate Transformation and De-Trending of Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectra. *Appl. Spectrosc.* 43, 772–777. <https://doi.org/10.1366/0003702894202201>
- Barré, P., Cécillon, L., Chenu, C., Martin, M., Vidal Beaudet, L., Eglin, T., 2020. La séquestration de carbone dans les sols agricoles, forestiers et urbains : état des lieux des méthodes d'évaluation et de quantification. *Etude Gest. Sols* 27, 305–320.
- Basile-Doelsch, I., Amundson, R., Stone, W.E.E., Masiello, C.A., Bottero, J.Y., Colin, F., Masin, F., Borschneck, D., Meunier, J.D., 2005. Mineralogical control of organic carbon dynamics in a volcanic ash soil on La Réunion. *Eur. J. Soil Sci.* 56, 689–703. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2005.00703.x>
- Basile-Doelsch, I., Balesdent, J., Pellerin, S., 2020. Reviews and syntheses: The mechanisms underlying carbon storage in soil. *Biogeosciences Discuss.* 1–33. <https://doi.org/10.5194/bg-2020-49>
- Basile-Doelsch, I., Brun, T., Borschneck, D., Masion, A., Marol, C., Balesdent, J., 2009. Effect of landuse on organic matter stabilized in organomineral complexes: A study combining density fractionation, mineralogy and  $\delta^{13}\text{C}$ . *Geoderma* 151, 77–86. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2009.03.008>
- Beare, M.H., McNeill, S.J., Curtin, D., Parfitt, R.L., Jones, H.S., Dodd, M.B., Sharp, J., 2014. Estimating the organic carbon stabilisation capacity and saturation deficit of soils: a New Zealand case study. *Biogeochemistry* 120, 71–87. <https://doi.org/10.1007/s10533-014-9982-1>
- Bellon-Maurel, V., McBratney, A., 2011. Near-infrared (NIR) and mid-infrared (MIR) spectroscopic techniques for assessing the amount of carbon stock in soils – Critical review and research perspectives. *Soil Biol. Biochem.* 43, 1398–1410. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.02.019>
- Bol, R., Poirier, N., Balesdent, J., Gleixner, G., 2009. Molecular turnover time of soil organic matter in particle-size fractions of an arable soil. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 23, 2551–2558. <https://doi.org/10.1002/rcm.4124>
- Chang, C.-W., Laird, D.A., Mausbach, M.J., Hurburgh, C.R., 2001. Near-Infrared Reflectance Spectroscopy–Principal Components Regression Analyses of Soil Properties. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65, 480–490. <https://doi.org/10.2136/sssaj2001.652480x>
- Chen, C., Dynes, J.J., Wang, J., Sparks, D.L., 2014. Properties of Fe-organic matter associations via coprecipitation versus adsorption. *Environ. Sci. Technol.* 48, 13751–13759. <https://doi.org/10.1021/es503669u>
- Chevallier, T., Fujisaki, K., Rouspard, O., Guidat, F., Kinoshita, R., de Melo Viginio Filho, E., Lehner, P., Albrecht, A., 2019. Short-range-order minerals as powerful factors explaining deep soil organic carbon stock distribution: the case of a coffee agroforestry plantation on Andosols in Costa Rica. *SOIL* 5, 315–332. <https://doi.org/10.5194/soil-5-315-2019>
- Cotrufo, M.F., Ranalli, M.G., Haddix, M.L., Six, J., Lugato, E., 2019. Soil carbon storage informed by particulate and mineral-associated organic matter. *Nat. Geosci.* 12, 989–994. <https://doi.org/10.1038/s41561-019-0484-6>
- Curtin, D., Beare, M.H., Qiu, W., 2015. Texture effects on carbon stabilisation and storage in New Zealand soils containing predominantly 2 : 1 clays. *Soil Res.* 54, 30–37. <https://doi.org/10.1071/SR14292>

- Denaix, L., Lamy, I., Bottero, J.Y., 1999. Structure and affinity towards Cd<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> of synthetic colloidal amorphous aluminosilicates and their precursors. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* 158, 315–325. [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(99\)00096-5](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(99)00096-5)
- Du, P., Yuan, P., Thill, A., Annabi-Bergaya, F., Liu, D., Wang, S., 2017. Insights into the formation mechanism of imogolite from a full-range observation of its sol-gel growth. *Appl. Clay Sci.* 150, 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2017.09.021>
- Dube, F., Zagal, E., Stolpe, N., Espinosa, M., 2009. The influence of land-use change on the organic carbon distribution and microbial respiration in a volcanic soil of the Chilean Patagonia. *For. Ecol. Manag.* 257, 1695–1704. <https://doi.org/re>
- Ellert, B.H., Bettany, J.R., 1995. Calculation of organic matter and nutrients stored in soils under contrasting management regimes. *Can. J. Soil Sci.* 75, 529–538. <https://doi.org/10.4141/cjss95-075>
- FAO, 2014. World reference base for soil resources 2014: international soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. FAO, Rome.
- Farmer, V.C., Russell, J.D., Smith, B.F.L., 1983. Extraction of inorganic forms of translocated Al, Fe and Si from a podzol Bs horizon. *J. Soil Sci.* 34, 571–576. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1983.tb01056.x>
- Feng, W., Shi, Z., Jiang, J., Xia, J., Liang, J., Zhou, J., Luo, Y., 2016. Methodological uncertainty in estimating carbon turnover times of soil fractions. *Soil Biol. Biochem.* 100, 118–124. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.06.003>
- Forouzangohar, M., Cozzolino, D., Smernik, R.J., Baldock, J.A., Forrester, S.T., Chittleborough, D.J., Kookana, R.S., 2013. Using the power of C-13 NMR to interpret infrared spectra of soil organic matter: A two-dimensional correlation spectroscopy approach. *Vib. Spectrosc. Complete*, 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2013.02.002>
- Fujisaki, K., Chapuis-Lardy, L., Albrecht, A., Razafimbelo, T., Chotte, J.-L., Chevallier, T., 2018. Data synthesis of carbon distribution in particle size fractions of tropical soils: Implications for soil carbon storage potential in croplands. *Geoderma* 313, 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.10.010>
- Grundl, T., Delwiche, J., 1993. Kinetics of ferric oxyhydroxide precipitation. *J. Contam. Hydrol.* 14, 71–87. [https://doi.org/10.1016/0169-7722\(93\)90042-Q](https://doi.org/10.1016/0169-7722(93)90042-Q)
- Guigue, J., Just, C., Luo, S., Fogt, M., Schloter, M., Kögel-Knabner, I., Hobbey, E., 2022. Spatial molecular heterogeneity of POM during decomposition at different soil depths resolved by VNIR hyperspectral imaging. *Eur. J. Soil Sci.* 73, e13207. <https://doi.org/10.1111/ejss.13207>
- Guillou, F.L., Wetterlind, W., Rossel, R.A.V., Hicks, W., Grundy, M., Tuomi, S., 2015. How does grinding affect the mid-infrared spectra of soil and their multivariate calibrations to texture and organic carbon? *Soil Res.* 53, 913–921. <https://doi.org/10.1071/SR15019>
- Guo, L.B., Gifford, R.M., 2002a. Soil carbon stocks and land use change: a meta analysis. *Glob. Change Biol.* 8, 345–360. <https://doi.org/10.1046/j.1354-1013.2002.00486.x>
- Guo, L.B., Gifford, R.M., 2002b. Soil carbon stocks and land use change: a meta analysis. *Glob. Change Biol.* 8, 345–360. <https://doi.org/10.1046/j.1354-1013.2002.00486.x>
- Gustafsson, J.P., Bhattacharya, P., Karlton, E., 1999. Mineralogy of poorly crystalline aluminium phases in the B horizon of Podzols in southern Sweden. *Appl. Geochem.* 14, 707–718. [https://doi.org/10.1016/S0883-2927\(99\)00002-5](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(99)00002-5)

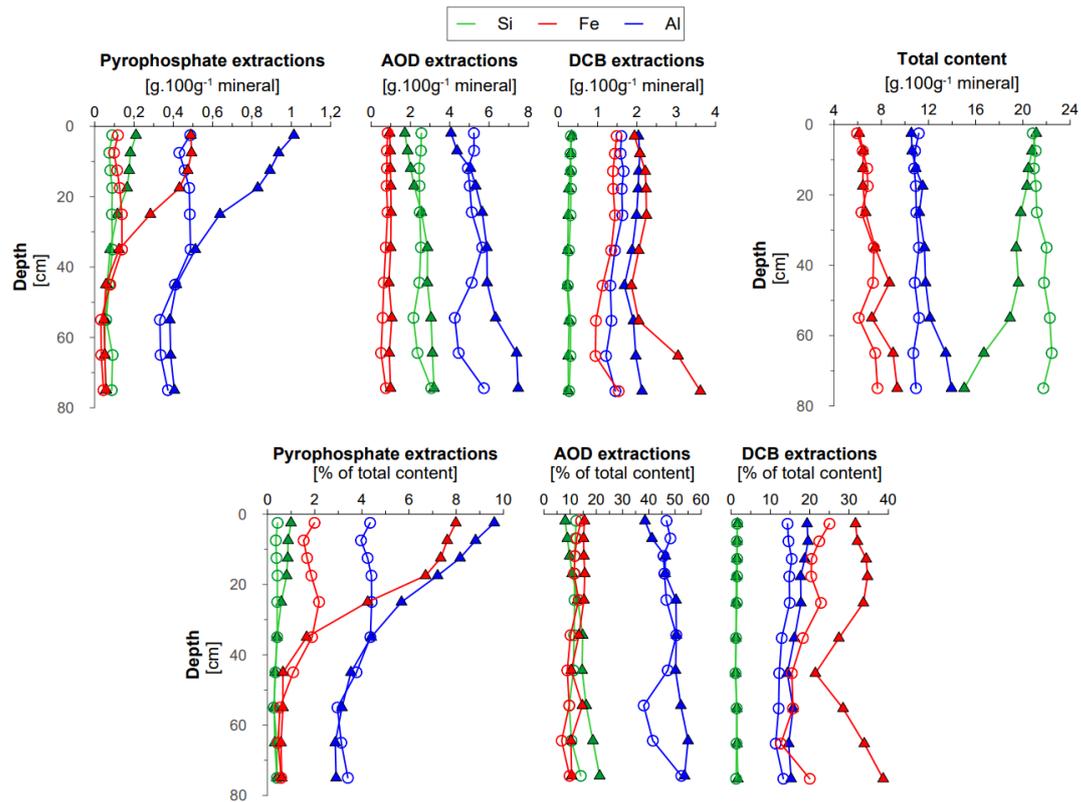
- Handke, M., Mozgawa, W., 1993. Vibrational spectroscopy of the amorphous silicates. *Vib. Spectrosc.* 5, 75–84. [https://doi.org/10.1016/0924-2031\(93\)87057-Z](https://doi.org/10.1016/0924-2031(93)87057-Z)
- Henmi, T., Wada, K., 1976. Morphology and composition of allophane. *Am. Mineral.* 61, 379–390.
- Inagaki, T.M., Possinger, A.R., Grant, K.E., Schweizer, S.A., Mueller, C.W., Derry, L.A., Lehmann, J., Kögel-Knabner, I., 2020. Subsoil organo-mineral associations under contrasting climate conditions. *Geochim. Cosmochim. Acta* 270, 244–263. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2019.11.030>
- Inoue, K., Huang, P.M., 1984. Influence of citric acid on the natural formation of imogolite. *Nature* 308, 58–60. <https://doi.org/10.1038/308058a0>
- Karltun, E., Bain, D.C., Gustafsson, J.P., Mannerkoski, H., Murad, E., Wagner, U., Fraser, A.R., McHardy, W.J., Starr, M., 2000. Surface reactivity of poorly-ordered minerals in podzol B horizons. *Geoderma* 94, 265–288. [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(98\)00141-4](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(98)00141-4)
- Kleber, M., Eusterhues, K., Keiluweit, M., Mikutta, C., Mikutta, R., Nico, P.S., 2015. Chapter One - Mineral–Organic Associations: Formation, Properties, and Relevance in Soil Environments, in: Sparks, D.L. (Ed.), *Advances in Agronomy*. Academic Press, pp. 1–140. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2014.10.005>
- Koga, N., Shimoda, S., Shirato, Y., Kusaba, T., Shima, T., Niimi, H., Yamane, T., Wakabayashi, K., Niwa, K., Kohyama, K., Obara, H., Takata, Y., Kanda, T., Inoue, H., Ishizuka, S., Kaneko, S., Tsuruta, K., Hashimoto, S., Shinomiya, Y., Aizawa, S., Ito, E., Hashimoto, T., Morishita, T., Noguchi, K., Ono, K., Katayanagi, N., Atsumi, K., 2020. Assessing changes in soil carbon stocks after land use conversion from forest land to agricultural land in Japan. *Geoderma* 377, 114487. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114487>
- Lavallee, J.M., Soong, J.L., Cotrufo, M.F., 2020. Conceptualizing soil organic matter into particulate and mineral-associated forms to address global change in the 21st century. *Glob. Change Biol.* 26, 261–273. <https://doi.org/10.1111/gcb.14859>
- Lehmann, J., Solomon, D., 2010. Chapter 10 - Organic Carbon Chemistry in Soils Observed by Synchrotron-Based Spectroscopy, in: Singh, B., Gräfe, M. (Eds.), *Developments in Soil Science, Synchrotron-Based Techniques in Soils and Sediments*. Elsevier, pp. 289–312. [https://doi.org/10.1016/S0166-2481\(10\)34010-4](https://doi.org/10.1016/S0166-2481(10)34010-4)
- Levard, C., Doelsch, E., Basile-Doelsch, I., Abidin, Z., Miche, H., Masion, A., Rose, J., Borschneck, D., Bottero, J.-Y., 2012. Structure and distribution of allophanes, imogolite and proto-imogolite in volcanic soils. *Geoderma* 183–184, 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2012.03.015>
- Linder, P., Östlund, L., 1998. Structural changes in three mid-boreal Swedish forest landscapes, 1885–1996. *Biol. Conserv.* 85, 9–19. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(97\)00168-7](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(97)00168-7)
- Lützenkirchen, J., Abdelmonem, A., Weerasooriya, R., Heberling, F., Metz, V., Marsac, R., 2014. Adsorption of dissolved aluminum on sapphire-c and kaolinite: implications for points of zero charge of clay minerals. *Geochem. Trans.* 15, 9. <https://doi.org/10.1186/1467-4866-15-9>
- Madejová, J., 2003. FTIR techniques in clay mineral studies. *Vib. Spectrosc.* 31, 1–10. [https://doi.org/10.1016/S0924-2031\(02\)00065-6](https://doi.org/10.1016/S0924-2031(02)00065-6)
- Matus, F., Amigo, X., Kristiansen, S.M., 2006. Aluminium stabilization controls organic carbon levels in Chilean volcanic soils. *Geoderma* 132, 158–168. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2005.05.005>

- Mehra, O.P., Jackson, M.L., 1958. Iron oxid removal from soils clays by a dithionite-citrate system buffered with sodium bicarbonate., in: Ingerson, E. (Ed.), *Clays and Clay Minerals*. Pergamon, pp. 317–327. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-009235-5.50026-7>
- Noda, I., Ozaki, Y., 2004. Generalized Two-Dimensional Correlation Spectroscopy in Practice, in: *Two-Dimensional Correlation Spectroscopy – Applications in Vibrational and Optical Spectroscopy*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 47–64. <https://doi.org/10.1002/0470012404.ch4>
- Osher, L.J., Matson, P.A., Amundson, R., 2003. Effect of land use change on soil carbon in Hawaii. *Biogeochemistry* 65, 213–232. <https://doi.org/10.1023/A:1026048612540>
- Pansu, M., Gautheyrou, J. (Eds.), 2006. Mineralogical Separation by Selective Dissolution, in: *Handbook of Soil Analysis: Mineralogical, Organic and Inorganic Methods*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 167–219. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-31211-6\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-540-31211-6_6)
- Parfitt, R.L., 1990. Allophane in New Zealand - a review. *Soil Res.* 28, 343–360. <https://doi.org/10.1071/sr9900343>
- Parfitt, R.L., Childs, C.W., 1983. Comment on clay mineralogy of two northland soils New Zealand. *Soil Sci. Plant Nutr.* 29, 555–559. <https://doi.org/10.1080/00380768.1983.10434659>
- Parfitt, R.L., Furkert, R.J., Henmi, T., 1980. Identification and Structure of Two Types of Allophane from Volcanic Ash Soils and Tephra. *Clays Clay Miner.* 28, 328–334. <https://doi.org/10.1346/CCMN.1980.0280502>
- Parikh, S.J., Goyne, K.W., Margenot, A.J., Mukome, F.N.D., Calderón, F.J., 2014. Chapter One - Soil Chemical Insights Provided through Vibrational Spectroscopy, in: Sparks, D.L. (Ed.), *Advances in Agronomy*. Academic Press, pp. 1–148. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800132-5.00001-8>
- Poeplau, C., Don, A., 2013. Sensitivity of soil organic carbon stocks and fractions to different land-use changes across Europe. *Geoderma* 192, 189–201. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2012.08.003>
- Poeplau, C., Vos, C., Don, A., 2017. Soil organic carbon stocks are systematically overestimated by misuse of the parameters bulk density and rock fragment content. *SOIL* 3, 61–66. <https://doi.org/10.5194/soil-3-61-2017>
- Possinger, A.R., Bailey, S.W., Inagaki, T.M., Kögel-Knabner, I., Dynes, J.J., Arthur, Z.A., Lehmann, J., 2020. Organo-mineral interactions and soil carbon mineralizability with variable saturation cycle frequency. *Geoderma* 375, 114483. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114483>
- Rasmussen, C., Heckman, K., Wieder, W.R., Keiluweit, M., Lawrence, C.R., Berhe, A.A., Blankinship, J.C., Crow, S.E., Druhan, J.L., Hicks Pries, C.E., Marin-Spiotta, E., Plante, A.F., Schädel, C., Schimel, J.P., Sierra, C.A., Thompson, A., Wagai, R., 2018. Beyond clay: towards an improved set of variables for predicting soil organic matter content. *Biogeochemistry* 137, 297–306. <https://doi.org/10.1007/s10533-018-0424-3>
- Rennert, T., 2018. Wet-chemical extractions to characterise pedogenic Al and Fe species – a critical review. *Soil Res.* 57, 1–16. <https://doi.org/10.1071/SR18299>
- Sanderman, J., Hengl, T., Fiske, G., 2017. Soil carbon debt of 12,000 years of human land use. *Proc. Natl. Acad. Sci.* <https://doi.org/10.1073/pnas.1706103114>

- Shimada, H., Wagai, R., Inoue, Y., Tamura, K., Asano, M., 2022. Millennium timescale carbon stability in an Andisol: How persistent are organo-metal complexes? *Geoderma* 417, 115820. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2022.115820>
- Sila, A.M., Shepherd, K.D., Pokhariyal, G.P., 2016. Evaluating the utility of mid-infrared spectral subspaces for predicting soil properties. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 153, 92–105. <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2016.02.013>
- Steffens, M., Buddenbaum, H., 2013. Laboratory imaging spectroscopy of a stagnic Luvisol profile — High resolution soil characterisation, classification and mapping of elemental concentrations. *Geoderma* 195–196, 122–132. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2012.11.011>
- Tamm, O., 1922. Eine Methode zur Bestimmung der anorganischen Komponenten des Gelkomplexes im Boden. *Medd. Fran Statens Skogsforsoksanstalt* 19, 385–404.
- Tamrat, W.Z., Rose, J., Grauby, O., Doelsch, E., Levard, C., Chaurand, P., Basile-Doelsch, I., 2019. Soil organo-mineral associations formed by co-precipitation of Fe, Si and Al in presence of organic ligands. *Geochim. Cosmochim. Acta* 260, 15–28. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2019.05.043>
- Terra, F.S., Demattê, J.A.M., Viscarra Rossel, R.A., 2015. Spectral libraries for quantitative analyses of tropical Brazilian soils: Comparing vis-NIR and mid-IR reflectance data. *Geoderma* 255–256, 81–93. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.04.017>
- Trumbore, S.E., Vogel, J.S., Southon, J.R., 1989. AMS 14C Measurements of Fractionated Soil Organic Matter: An Approach to Deciphering the Soil Carbon Cycle. *Radiocarbon* 31, 644–654. <https://doi.org/10.1017/S0033822200012248>
- Verde, J.R., Arbestain, M.C., Macías, F., 2005. Expression of andic properties in soils from Galicia (NW Spain) under forest and agricultural use. *Eur. J. Soil Sci.* 56, 53–64. <https://doi.org/10.1111/j.1351-0754.2004.00651.x>
- Vogel, C., Kohl, A., Adams, C., 2011. Spectroscopic Investigation in the Mid- and Far-Infrared Regions of Phosphorus Fertilizers Derived from Thermochemically Treated Sewage Sludge Ash. *Appl. Spectrosc.* 65, 265–271. <https://doi.org/10.1366/10-06168>
- Wada, K., Harward, M.E., 1974. Amorphous Clay Constituents of Soils, in: Brady, N.C. (Ed.), *Advances in Agronomy*. Academic Press, pp. 211–260. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60872-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60872-X)
- Zysset, M., Blaser, P., Luster, J., Gehring, A.U., 1999. Aluminum Solubility Control in Different Horizons of a Podzol. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63, 1106–1115. <https://doi.org/10.2136/sssaj1999.6351106x>

## 2.6. Annexes

Annexe 1. Concentrations en Al, Si et Fe extraits par pyrophosphates, AOD et DCB et concentration totale d'Al, Si et Fe des sols *bulk* en forêt et cultivé.



**Annexe 1. Concentrations en Al, Si et Fe extraits par pyrophosphates, AOD et DCB et concentration totale d'Al, Si et Fe des sols.**  
Analyses sur les sols *bulk*. Les pourcentages entre parenthèses correspondent au pourcentage de l'élément extrait par l'agent d'extraction par rapport à l'extraction totale de l'élément.

Land-use	Depth	Al extractions					Si extractions					Fe extractions				
		Pyr	AOD	DCB	Sum of Pyr, AOD and	Total Al	Pyr	AOD	DCB	Sum of Pyr, AOD and	Total Si	Pyr	AOD	DCB	Sum of Pyr, AOD and	Total Fe
	[cm]	[g.100g mineral]														
Forest	00-05	1,01 (10%)	4,07 (39%)	2,04 (19%)	7,12 (68%)	10,54	0,21 (1%)	1,72 (8%)	0,34 (2%)	2,27 (11%)	21,14	0,49 (8%)	0,95 (15%)	1,94 (32%)	3,38 (55%)	6,13
Forest	00-05	0,94 (9%)	4,37 (41%)	2,08 (20%)	7,39 (70%)	10,61	0,18 (1%)	1,86 (9%)	0,31 (2%)	2,36 (11%)	20,78	0,49 (8%)	0,98 (15%)	2,08 (32%)	3,55 (55%)	6,46
Forest	oct-15	0,89 (8%)	5,06 (46%)	2,05 (19%)	7,99 (73%)	10,92	0,18 (1%)	2,01 (10%)	0,3 (1%)	2,49 (12%)	20,47	0,47 (7%)	0,98 (15%)	2,21 (34%)	3,67 (57%)	6,44
Forest	15-20	0,83 (7%)	5,32 (46%)	2,04 (18%)	8,19 (71%)	11,5	0,16 (1%)	2,19 (11%)	0,27 (1%)	2,63 (13%)	20,35	0,43 (7%)	1 (16%)	2,23 (35%)	3,67 (57%)	6,44
Forest	20-30	0,64 (6%)	5,65 (50%)	1,99 (18%)	8,28 (74%)	11,22	0,12 (1%)	2,56 (13%)	0,25 (1%)	2,93 (15%)	19,83	0,28 (4%)	1,02 (15%)	2,24 (34%)	3,55 (53%)	6,67
Forest	30-40	0,51 (4%)	5,89 (51%)	1,88 (16%)	8,28 (71%)	11,66	0,08 (0%)	2,87 (15%)	0,24 (1%)	3,19 (16%)	19,44	0,12 (2%)	1 (13%)	2,05 (27%)	3,17 (42%)	7,47
Forest	40-50	0,42 (4%)	5,9 (50%)	1,68 (14%)	8 (68%)	11,76	0,06 (0%)	2,86 (15%)	0,23 (1%)	3,16 (16%)	19,63	0,06 (1%)	0,91 (10%)	1,86 (21%)	2,83 (33%)	8,69
Forest	50-60	0,38 (3%)	6,33 (52%)	1,91 (16%)	8,63 (71%)	12,12	0,05 (0%)	3,05 (16%)	0,28 (1%)	3,38 (18%)	18,92	0,05 (1%)	1,06 (15%)	2,05 (28%)	3,15 (44%)	7,19
Forest	60-70	0,39 (3%)	7,4 (55%)	1,97 (15%)	9,76 (73%)	13,46	0,05 (0%)	3,12 (19%)	0,25 (2%)	3,43 (21%)	16,69	0,05 (1%)	0,93 (10%)	3,05 (34%)	4,02 (45%)	9
Forest	70-80	0,41 (3%)	7,48 (54%)	2,13 (15%)	10,02 (72%)	13,95	0,06 (0%)	3,2 (21%)	0,26 (2%)	3,52 (23%)	15,03	0,06 (1%)	0,99 (11%)	3,62 (39%)	4,66 (50%)	9,35
Crop	00-05	0,49 (4%)	5,23 (47%)	1,61 (14%)	7,32 (66%)	11,18	0,09 (0%)	2,56 (12%)	0,32 (2%)	2,97 (14%)	20,84	0,12 (2%)	0,84 (14%)	1,49 (25%)	2,45 (41%)	5,94
Crop	00-05	0,43 (4%)	5,24 (48%)	1,59 (15%)	7,26 (67%)	10,86	0,07 (0%)	2,54 (12%)	0,31 (1%)	2,93 (14%)	21,09	0,1 (2%)	0,8 (13%)	1,44 (22%)	2,34 (36%)	6,42
Crop	oct-15	0,46 (4%)	4,92 (46%)	1,66 (15%)	7,04 (65%)	10,78	0,08 (0%)	2,44 (12%)	0,33 (2%)	2,84 (14%)	20,94	0,11 (2%)	0,81 (12%)	1,39 (20%)	2,31 (34%)	6,81
Crop	15-20	0,48 (4%)	5,02 (46%)	1,62 (15%)	7,12 (65%)	10,92	0,09 (0%)	2,47 (12%)	0,33 (2%)	2,88 (14%)	21,11	0,13 (2%)	0,79 (11%)	1,4 (20%)	2,31 (34%)	6,85
Crop	20-30	0,48 (4%)	5,12 (47%)	1,63 (15%)	7,24 (66%)	10,96	0,09 (0%)	2,48 (12%)	0,31 (1%)	2,88 (14%)	21,18	0,14 (2%)	0,84 (13%)	1,44 (23%)	2,42 (38%)	6,31
Crop	30-40	0,49 (4%)	5,65 (51%)	1,44 (13%)	7,58 (68%)	11,18	0,09 (0%)	2,53 (12%)	0,27 (1%)	2,9 (13%)	22,02	0,14 (2%)	0,75 (10%)	1,35 (18%)	2,23 (30%)	7,36
Crop	40-50	0,41 (4%)	5,12 (47%)	1,33 (12%)	6,85 (63%)	10,83	0,07 (0%)	2,45 (11%)	0,24 (1%)	2,77 (13%)	21,79	0,08 (1%)	0,65 (9%)	1,13 (15%)	1,86 (25%)	7,29
Crop	50-60	0,33 (3%)	4,26 (38%)	1,36 (12%)	5,95 (53%)	11,2	0,06 (0%)	2,16 (10%)	0,32 (1%)	2,53 (11%)	22,29	0,03 (1%)	0,59 (10%)	0,96 (16%)	1,58 (26%)	6,09
Crop	60-70	0,34 (3%)	4,45 (42%)	1,22 (11%)	6 (56%)	10,72	0,09 (0%)	2,36 (11%)	0,31 (1%)	2,76 (12%)	22,45	0,03 (0%)	0,51 (7%)	0,95 (13%)	1,49 (20%)	7,48
Crop	70-80	0,37 (3%)	5,74 (52%)	1,45 (13%)	7,56 (69%)	10,94	0,09 (0%)	3,06 (14%)	0,28 (1%)	3,43 (16%)	21,74	0,04 (1%)	0,75 (10%)	1,54 (20%)	2,33 (30%)	7,68

## Annexe 2. Analyse en composante principale (PCA) des spectres MIR des fractions <20 µm du sol en forêt et cultivé.

Une PCA des spectres MIR des fractions <20 µm du sol en forêt et cultivé a été faite afin d'analyser les variabilités spectrales et de détecter les potentielles *outliers* (valeurs aberrantes). L'analyse du sol en forêt (A) par PCA a expliqué 96 % de la variabilité spectrale en 2 composantes. La répartition entre des deux composantes n'a pas montré d'*outlier*. L'analyse par PCA du sol cultivé (B) a expliqué 87% de la variabilité en 8 composantes. Par sa reconstruction en de multiples composantes et son faible pourcentage de variabilité expliquée, cette PCA est peu exploitable pour une interprétation précise des nombres impliqués dans ces variabilités. Mais la variabilité des différents composantes principales n'a pas montré d'*outlier* sur les différentes composantes. Ce qui nous a permis d'utiliser ces spectres MIR dans des modèles PLSR.

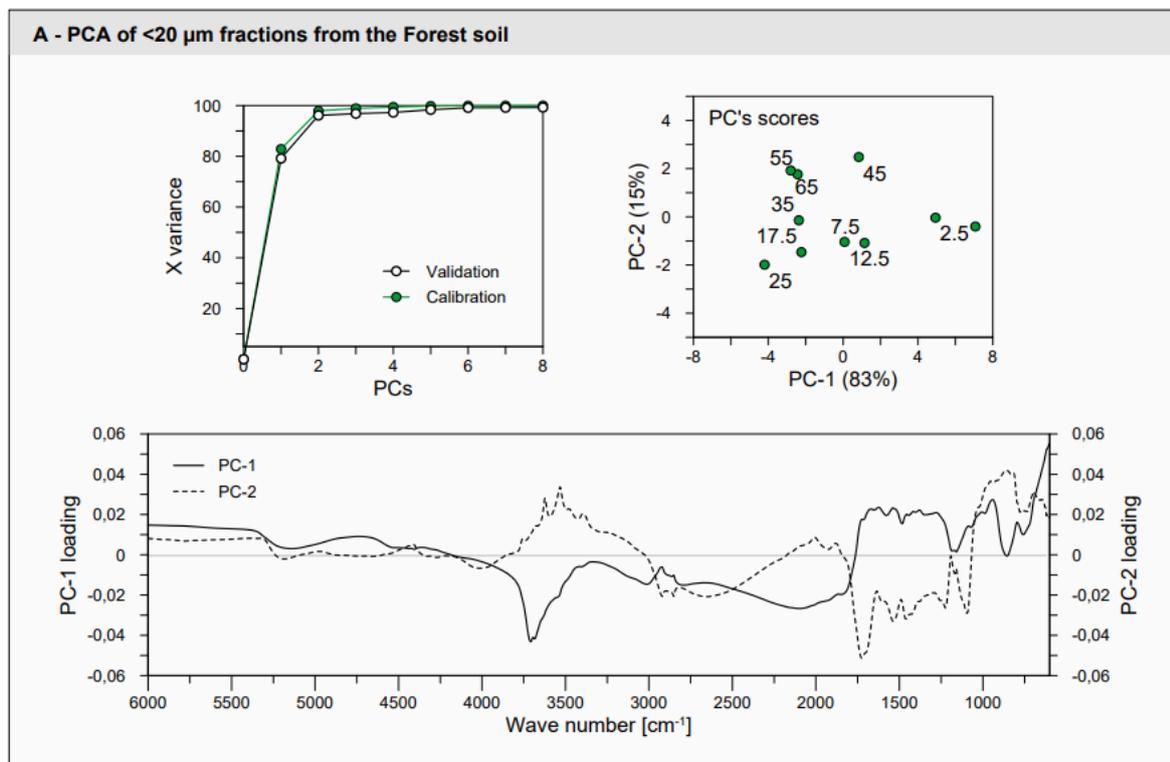


Figure A. PCA des spectre MIR des fractions <20 µm du sol en forêt. Les étiquettes des scores inter-composantes correspondent à la profondeur moyenne de l'échantillon. Les loadings attribués des PC-1 et 2 sont figurés à titre informatif.

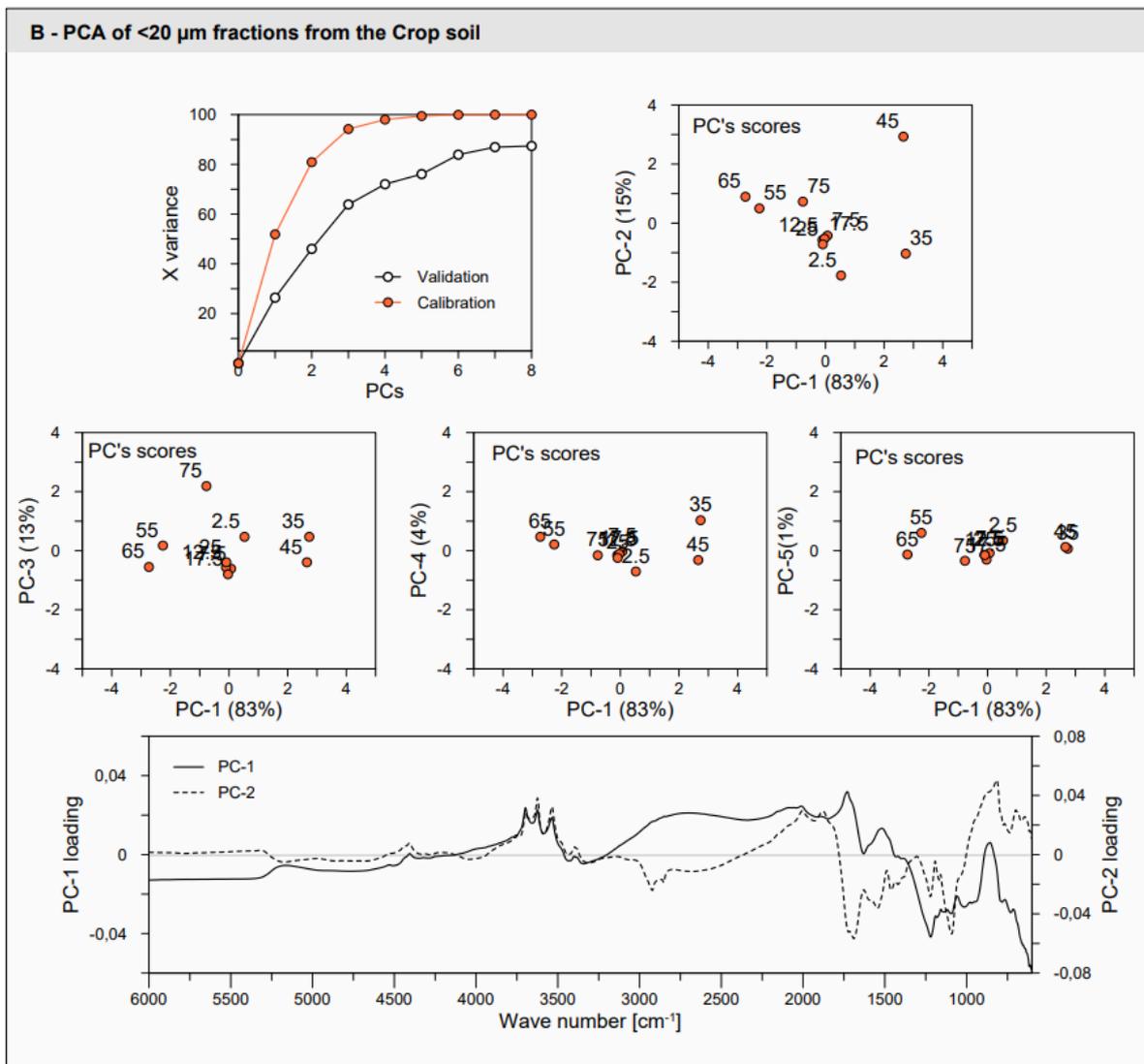


Figure B. PCA des spectre MIR des fractions <math><20 \mu\text{m}</math> du sol cultivé. Les étiquettes des scores inter-composantes correspondent à la profondeur moyenne de l'échantillon. Les loadings attribués des PC-1 et 2 sont figurés à titre informatif.

**Annexe 3. Paramètres des modèles PLSR utilisés pour modéliser la concentration en C des fractions fines du sol en forêt et cultivé.**

Land-use		Forest	Crop
data		sqrt[C]	
Samples informations	Sample number	10	10
	Samples standard derivation	2,44	1,90
	Q3-Q1	3,63	2,60
PLSR models informations	Factor number	2	7
	Explained variance	98,2	93,6
	Slope	0,97	1,01
	Offset	0,31	-0,16
	Correlation	0,99	0,96
	R <sup>2</sup> (pearson)	0,98	0,93
	R <sup>2</sup>	0,98	0,94
	RMSE	0,34	0,51
	SE	0,36	0,52
	Bias	0,03	-0,12
Evaluation model parameters	RPD	6,75	3,66
	RDIQ	10,07	4,99

#### **Annexe 4. Corrélation spectrale entre les signaux MIR et DRX : choix de la variable de perturbation et de deux matrices indépendantes pour le sol en forêt et cultivé.**

Les bandes de diffusion détectées par DRX (4.5 et 7°) ont tendance à être plus intenses en profondeur qu'en surface (Figure 8). L'objectif de cette matrice est de comprendre si les phases amorphes peuvent être associées aux nombres d'ondes MIR attribués aux *imogolites type material* (ITM) (~1000-600 cm<sup>-1</sup>) et/ou aux nombres d'ondes MIR attribués MO dans les coprécipités (modélisés par PLSR ; Figure 10; entre 1725-1220 cm<sup>-1</sup> et autour de 1100 cm<sup>-1</sup> pour le sol en forêt et autour de 1725, 1510 et 1100 cm<sup>-1</sup> pour le sol cultivé). La corrélation des signaux MIR et DRX effectuée en Figure 11 comporte deux choix : (i) la définition de la variable de perturbation suivant la profondeur et non pas la concentration en C et (ii) la conception de deux matrices indépendantes pour le sol en forêt et le sol cultivé.

(i) L'attribution d'un coefficient de profondeur comme variable de perturbation a été testée de l'évolution vers la surface ou bien vers la profondeur (e.g. un coefficient variant de 0 à 70 ou bien de 70 à 0 ; Figure A et B). Les résultats étaient identiques à la Figure 11 (Figure B). Ce qui indique que le sens de la variable de perturbation n'influence pas les résultats. D'autres tests ont été conduits avec la concentration en C comme variable de perturbation (Figure C). Pour le sol en forêt (Figure C1), malgré quelques variations, les résultats d'attribution des phases amorphes détectées par DRX (4.5 et 7°) étaient assez similaires à la matrice réalisée pour une variable de perturbation de profondeur. Cependant, les coefficients attribués aux pics du quartz étaient positivement corrélés aux signaux impliqués aux modélisations du C en MIR (1725-1220 cm<sup>-1</sup> et autour de 1100 cm<sup>-1</sup>). Nous supposons qu'utiliser la concentration en C crée des variables latentes qui compliquent l'attribution des signaux DRX et MIR. Par exemple, cette corrélation entre quartz et signaux MIR attribués au C peut s'expliquer par le fait que les deux premiers horizons du sol en forêt (0-5 et 5-10 cm) comportent des pics de quartz, assez intenses comparés aux horizons 15-20, 20-30 et 30-40 cm (Figure A). Puisque ces deux premiers horizons comportent des concentrations en C très fortes (168 et 136 gC.kg<sup>-1</sup>), les pics de quartz et la concentration en C sont corrélés (Figure C1). Pour le sol cultivé, les tests conduits avec la concentration en C comme variable de perturbation ont montré des résultats différents que ceux conduits avec la variable de perturbation profondeur (Figure C2). Le sol en culture comporte de faibles variations de concentration en C pour les horizons, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 et 30-40 (entre 74 et 85 gC.kg<sup>-1</sup>), alors que l'horizon 0-5 cm comporte une concentration presque doublée (130 gC.kg<sup>-1</sup>). Nous supposons que les coefficients de corrélation soient fortement influencés par ces différences.

Pour conclure, puisque notre question de recherche est l'attribution des phases amorphes détectées par DRX aux signaux MIR et que les nombres d'onde MIR impliqués dans la stabilisation du C sont déjà identifiés. Nous avons choisi un

coefficient de profondeur comme variable de perturbation pour éviter les variables latentes corrélées à la concentration en C.

(ii) Suivant les hypothèses de l'étude au départ, l'attribution des phases amorphes détectées par DRX aux liaisons MIR pourrait être différente pour le sol en forêt et cultivé. La mise en culture pourrait influencer le type de coprécipités restant dans le sol cultivé. C'est pourquoi l'attribution des phases amorphes détectées par DRX (4.5 et 7°) aux signaux MIR est faite indépendamment pour les deux sols.

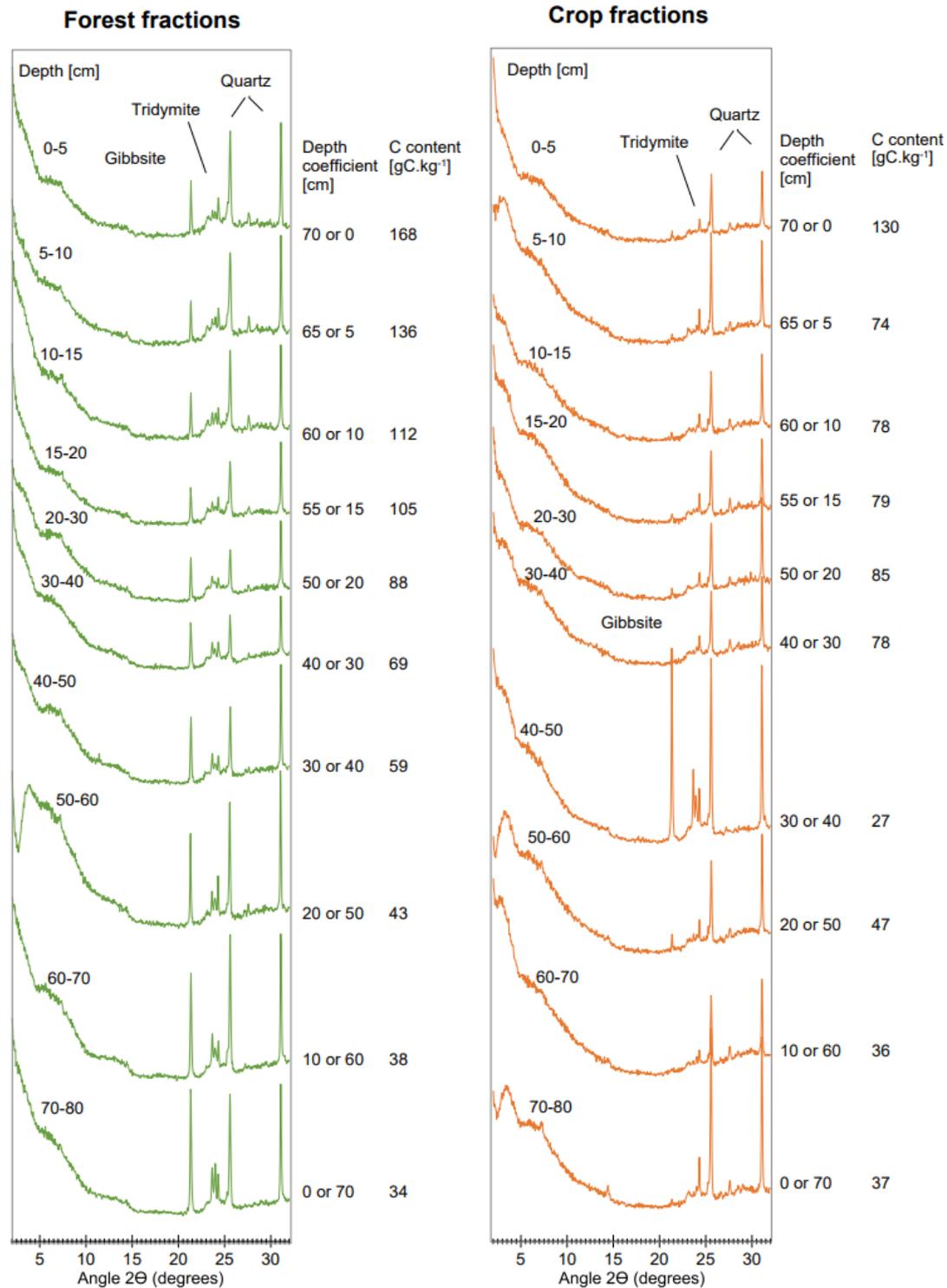


Figure A. Spectres DRX des fractions <20 µm et variables de perturbation associées dans les essais de matrices de corrélation MIR et DRX

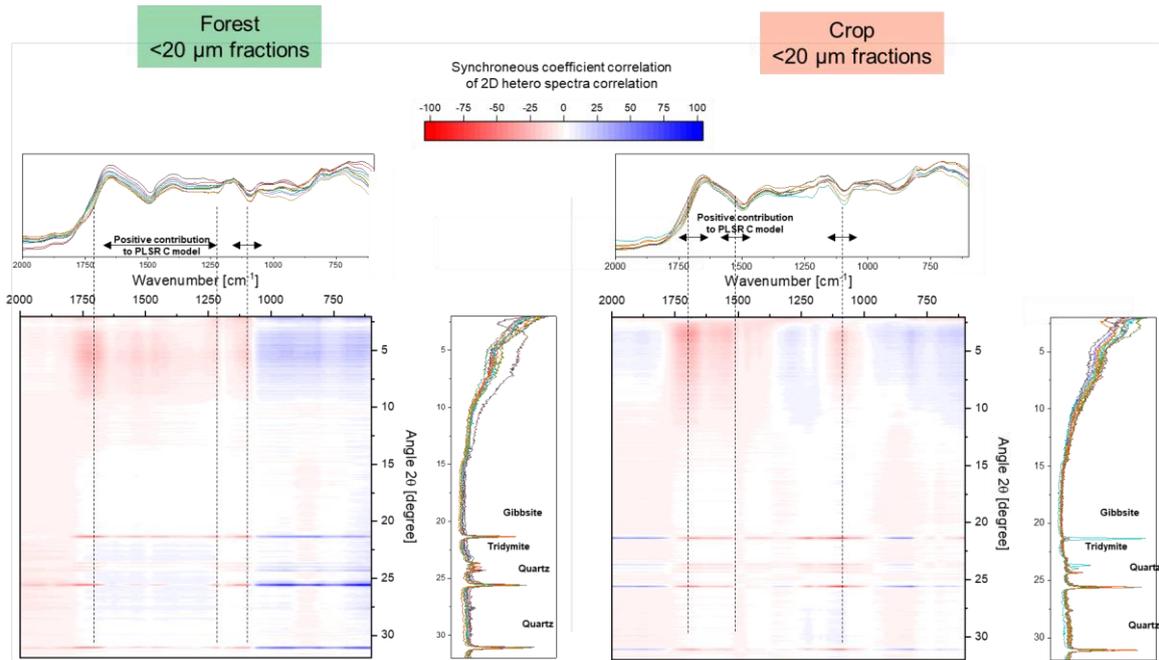


Figure B. Matrices de corrélation entre les signaux MIR et DRX pour le sol en forêt et cultivé. La variable de perturbation profondeur est inversée par rapport à celle montré en Figure 11.

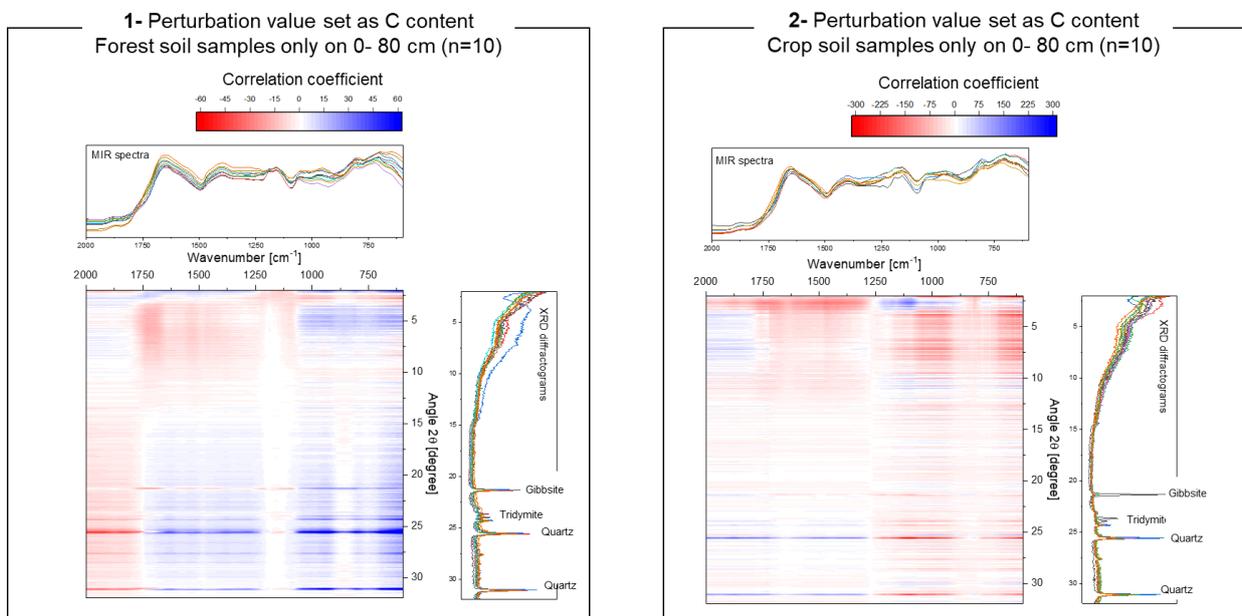


Figure C. Matrices de corrélation entre les signaux MIR et DRX. (A) Matrice pour le sol en forêt et (B) pour le sol cultivé avec la concentration en C comme variable de perturbation.

### Annexe 5. Données de fractionnements et recouvrement en masse et en C des fractions de sols.

	Fractions	Mass proportion			Mass recovery percentage	C content			C proportion			Total C content according to fractionation	Total C content of bulk soils	C recovery percentage
		>100	100-20	<20		>100	100-20	<20	>100	100-20	<20			
		[%]				[%]	[gC.kg <sup>-1</sup> ]			[%]				
Depth [cm]														
Forest soil	00-05	53	14	33	95	68±8	131±16	168±1	33±4	16±2	51±0	110	127	87
	05-oct	48	14	38	93	36±7	94±4	136±1	21±4	16±1	63±1	82	89	92
	oct-15	44	16	40	93	15±2	70±0	112±1	11±1	18±0	72±1	62	73	85
	15-20	45	13	41	96	16±4	68±6	105±3	12±3	15±1	73±2	59	62	96
	20-30	53	11	36	99	22±3	54±1	88±3	24±3	12±0	65±2	49	52	95
	30-40	54	17	28	94	17±4	54±0	69±2	24±5	25±0	51±2	38	42	90
	40-50	67	20	13	98	14±1	50±1	59±1	35±2	36±1	28±0	27	32	84
	50-60	68	23	9	103	10±1	36±2	43±0	36±5	44±3	20±0	19	26	72
	60-70	40	34	25	100	12±1	40±1	38±1	18±2	48±1	34±1	28	25	112
70-80	28	24	48	93	8±1	27±1	34±0	9±1	26±1	65±1	25	26	94	
Crop soil	00-05	63	27	10	101	23±1	116±1	130±1	24±1	52±0	23±0	59	48	124
	05-oct	67	19	14	89	10±1	56±3	74±2	25±3	39±2	37±1	28	29	95
	oct-15	64	21	15	103	11±1	57±0	78±2	23±2	39±0	38±1	31	30	105
	15-20	68	19	13	101	12±1	54±1	79±2	28±2	35±0	36±1	29	30	94
	20-30	65	17	18	100	12±1	55±3	85±1	25±2	29±1	47±1	32	34	96
	30-40	72	16	12	88	14±1	62±1	78±3	34±2	35±0	31±1	29	35	83
	40-50	63	17	20	103	10±1	60±2	27±2	28±2	48±1	24±2	22	26	85
	50-60	83	10	8	96	7±0	39±1	47±1	44±2	29±1	27±1	13	15	90
	60-70	80	10	9	96	4±0	25±0	36±2	34±3	29±0	38±2	9	12	75
70-80	58	32	10	97	5±0	36±3	37±1	17±0	63±6	21±0	18	20	92	

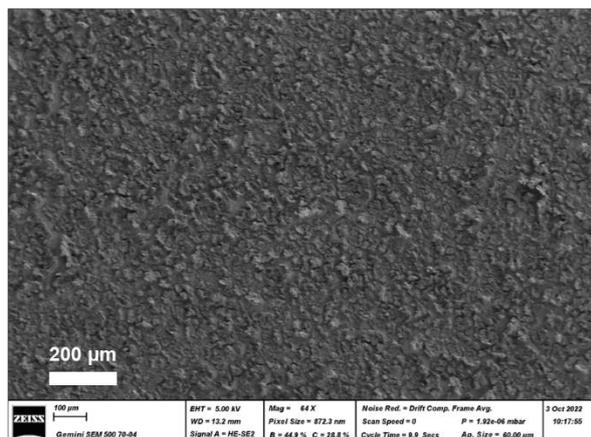
## **Annexe 5. Imagerie des fractions <20 µm par MEB, cartographies chimiques par détection des électrons rétrodiffusés et cartographies chimiques par EDX.**

Les fractions <20 µm du sol en forêt et cultivé des horizons 10-15 cm et 50-60 cm sont analysées par MEB (Figure A et B). Pour les horizons 10-15 cm, l'imagerie et l'analyse du contraste chimique par la détection des électrons rétrodiffusés montre une homogénéité des fractions aux micro-échelles (Figure A). L'imagerie des surfaces aux échelles nanométriques montre une texture rugueuse, pour le sol en forêt comme pour le sol cultivé (Figure A). Quelques objets tubulaires, assimilables à des groupements d'imogolites, ont été détectés pour le sol cultivé (non-montré ici). Pour les horizons 50-60 cm, l'imagerie et l'analyse du contraste chimique par la détection des électrons rétrodiffusés est homogène pour le sol en forêt aux micro-échelles (Figure B). Le sol cultivé a quelques agrégats plus clairs, qui contiennent alors probablement plus d'atomes lourds (ceux ayant un nombre important d'électrons/protons), en nature ou densité d'atome, que les agrégats plus sombres environnent. L'imagerie des surfaces aux échelles nanométriques, montre aussi une texture générale rugueuse et beaucoup d'objets tubulaires, assimilables à des groupements d'imogolites, sont détectés pour les deux sols (flèches rouges, Figure B). Des analyses par électrons rétrodiffusés ont attestés que ces tubes étaient plus clairs ou de même niveau de gris que les matériaux environnent, et donc non assimilable à des polysaccharides (Figure C). C'est pourquoi nous attribuons ces structures à des groupements d'imogolites.

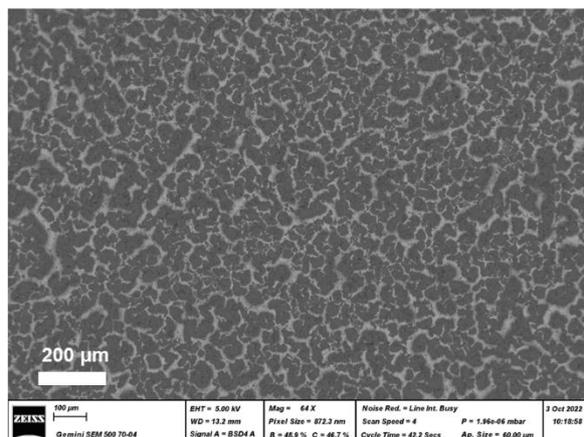
Les cartographies par EDX dans les horizons 50-60 cm ont faiblement ou pas détecté de C (Figure C). Le C, faiblement détecté, semble réparti. Cette plus faible détection aux micro-échelles reflète la plus faible concentration de C de cette fraction.

Forest soil fraction

Image

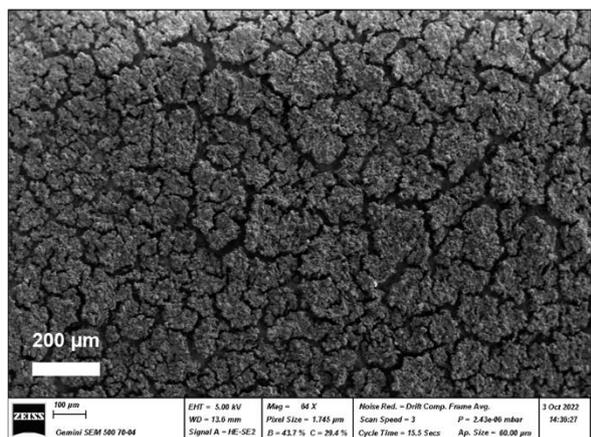


Chemical contrast using back-scattered electrons

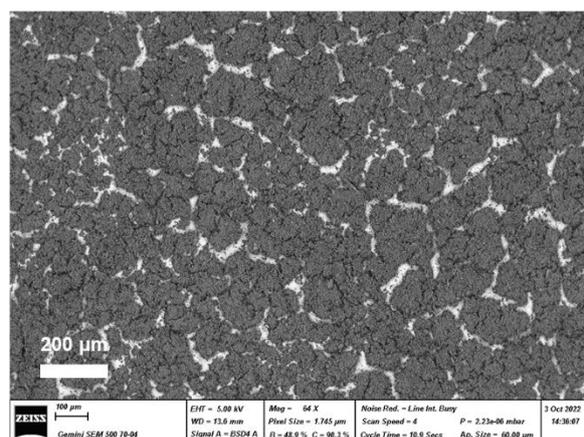


Crop soil fraction

Image

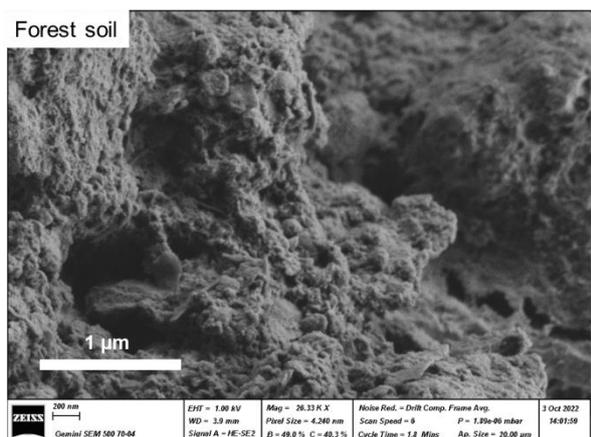


Chemical contrast using back-scattered electrons



Nano-scale surface analysis

Forest soil



Crop soil

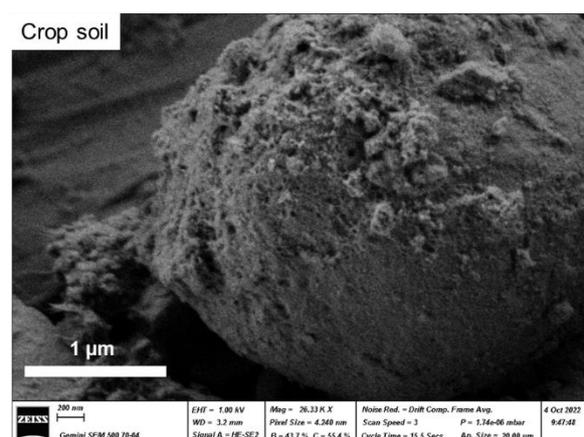


Figure A. Analyse par MEB des fractions <20 µm du sol en forêt et cultivé, horizons 10-15 cm. L'analyse par électrons rétrodiffusés (*back-scattered électrons*) pour le sol en forêt et cultivé montre l'homogénéité chimique de ces fractions de sols. Les surfaces ont été imagées aux échelles micro à nanométriques.

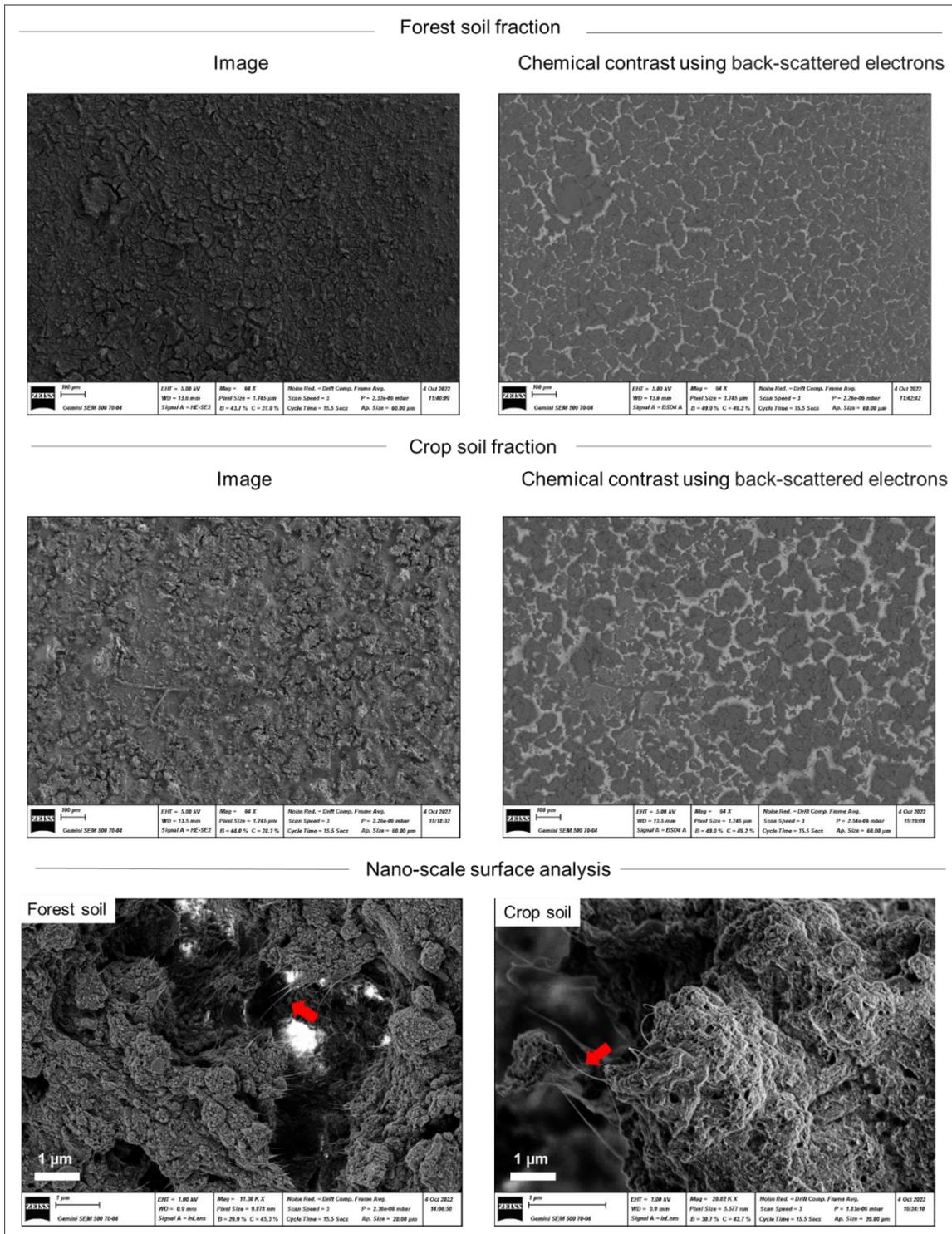


Figure B. Analyse par MEB des fractions <math>< 20 \mu\text{m}</math> du sol en forêt et cultivé, **horizons 50-60 cm**. L'analyse par électrons rétrodiffusés (*back-scattered électrons*) pour le sol en forêt montre l'homogénéité chimique de cette fraction de sols. Le sol cultivé, contient des agrégats plus clairs, qui contiennent alors des atomes plus lourds (ceux ayant un nombre important d'électrons/protons) en nature ou densité, que les agrégats sombres environnent. Les surfaces ont été imagées aux échelles micro à nanométriques et montre une texture rugueuse mais aussi des fibres (flèches rouges) assimilables à des groupements d'imogolites.

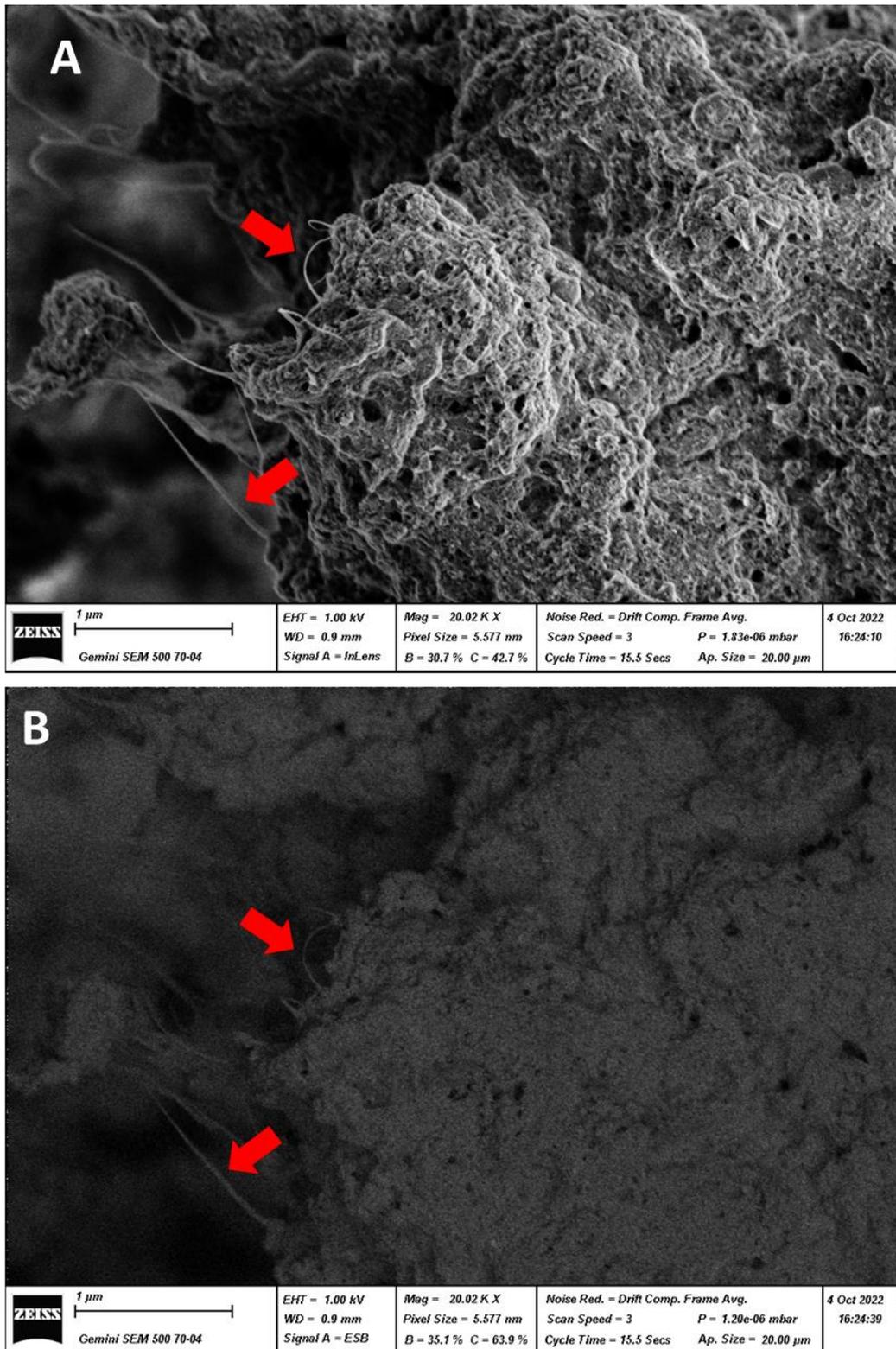


Figure C. Imagerie des objets tubulaires assimilés à des groupements d'imogolites du sol cultivé (horizon 50-60 cm). L'image A montre des structures tubulaires, fragiles sous faisceau. Une analyse par cartographie EDX est alors impossible. Cependant l'analyse des électrons rétrodiffusés (image B) a permis de visualiser un contraste chimique similaire aux agrégats environnements ou légèrement plus clair. Cette analyse a permis d'exclure de possibles polysaccharides ou autre matière comportant seulement du C (atomes très léger).

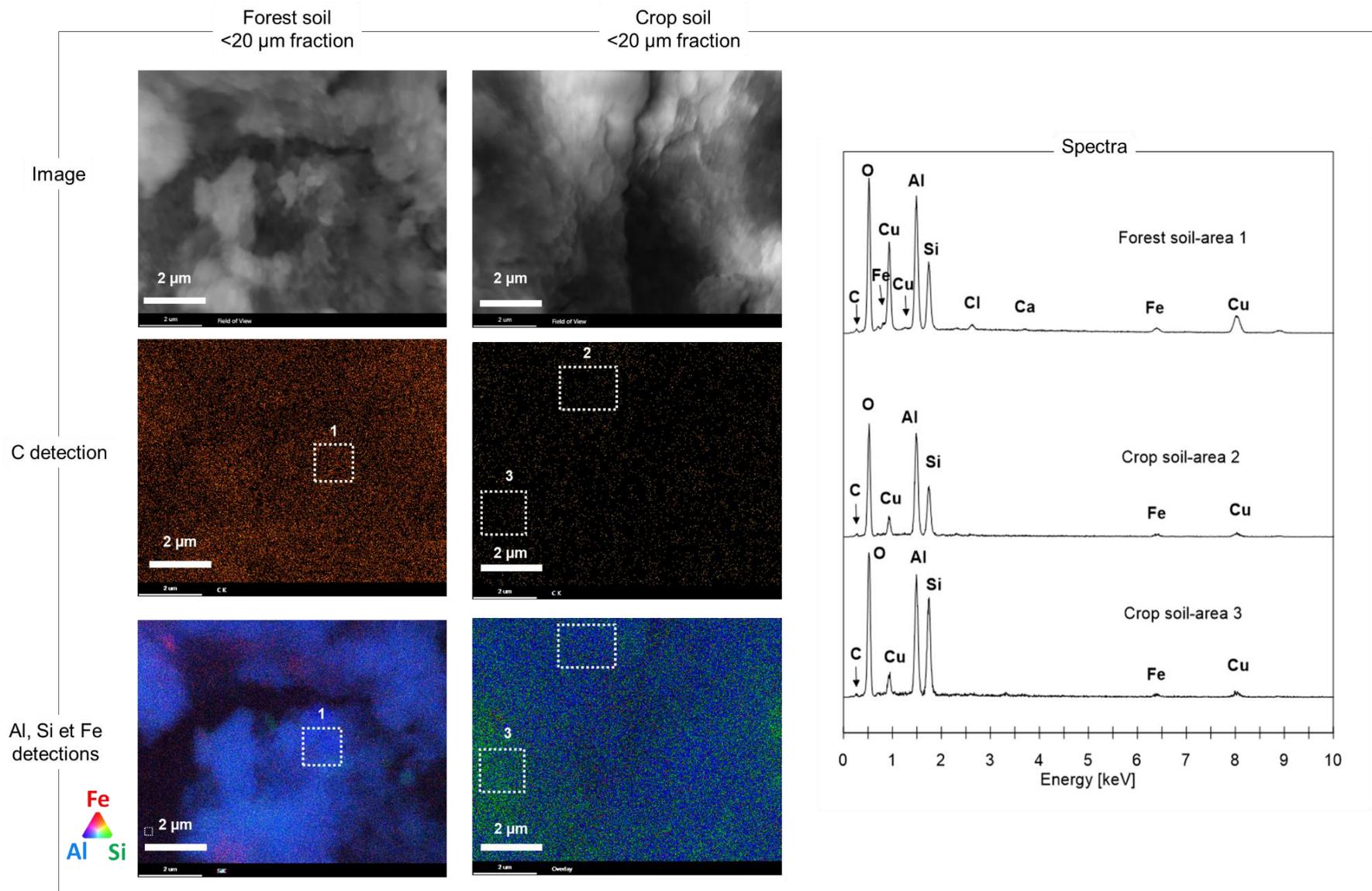


Figure D. Imagerie et cartographie chimique par MEB-EDX des fractions <20 μm du sol en forêt et cultivé. Horizon 50-60 cm

## Annexe 6. Spectres MIR des fractions <20 µm du sol en forêt et cultivé.

L'analyse MIR des fractions <20 µm a mis en évidence une diversité de liaisons minérales et organiques. Suivant le contexte de l'étude, l'attribution des bandes et des pics est effectuée comme suit. Les larges bandes d'absorption de 3800 à 2800 cm<sup>-1</sup> sont attribuées à la liaison O-H de l'eau retenue dans la fraction (Gustafsson et al., 1995) et de 3600-3200 cm<sup>-1</sup> aux liaisons O-H des *imogolites type material* (Baldock et al., 2019). Le pic à 3620 cm<sup>-1</sup> est attribué aux vibrations O-H de la gibbsite et des oxy-hydroxydes (Madejová, 2003; Gustafsson et al., 1999; Zysset et al., 1999). Le pic à 3535 cm<sup>-1</sup> est attribué aux vibrations O-H de la gibbsite (Parikh et al., 2014). Les pics à 2930 cm<sup>-1</sup> et 2850 cm<sup>-1</sup> sont attribués aux liaisons C-H des MO (Baldock et al., 2019 ; Parikh et al., 2014). Les pics à 2000 et 1870 cm<sup>-1</sup> sont attribués aux liaisons Si-O du quartz (Nguyen et al., 1991 ; Guillou et al., 2015 ; Terra et al., 2015 ; Sila et al., 2016). Les bandes et pics d'absorption de 1645 à 1190 cm<sup>-1</sup> sont attribués au Si-O du quartz et à diverses liaisons des matières organiques : O-H de la matière organique, les vibration C=C des structures aromatiques, C-H des aliphatiques, C-O des éthers aryl, phénol et carboxyles (Parikh et al., 2014). Le pic à 1155 cm<sup>-1</sup> est attribué à la liaison C-O des aliphatiques mais aussi à la liaison Si-O du quartz (Nguyen et al., 1991 ; Parikh et al., 2014). La région entre 1050 et 650 cm<sup>-1</sup> est attribué aux liaisons Si-O, Al-O et Si-O-Al des proto-imogolites et de la tridymite (Yoshinaga et Aomine, 1962 ; Wada et Harward, 1974 ; Parfitt et al., 1980 ; Inoue et Huang, 1984 ; Lindner et al., 1998 ; Karlton et al., 2000 ; Levard et al., 2012).

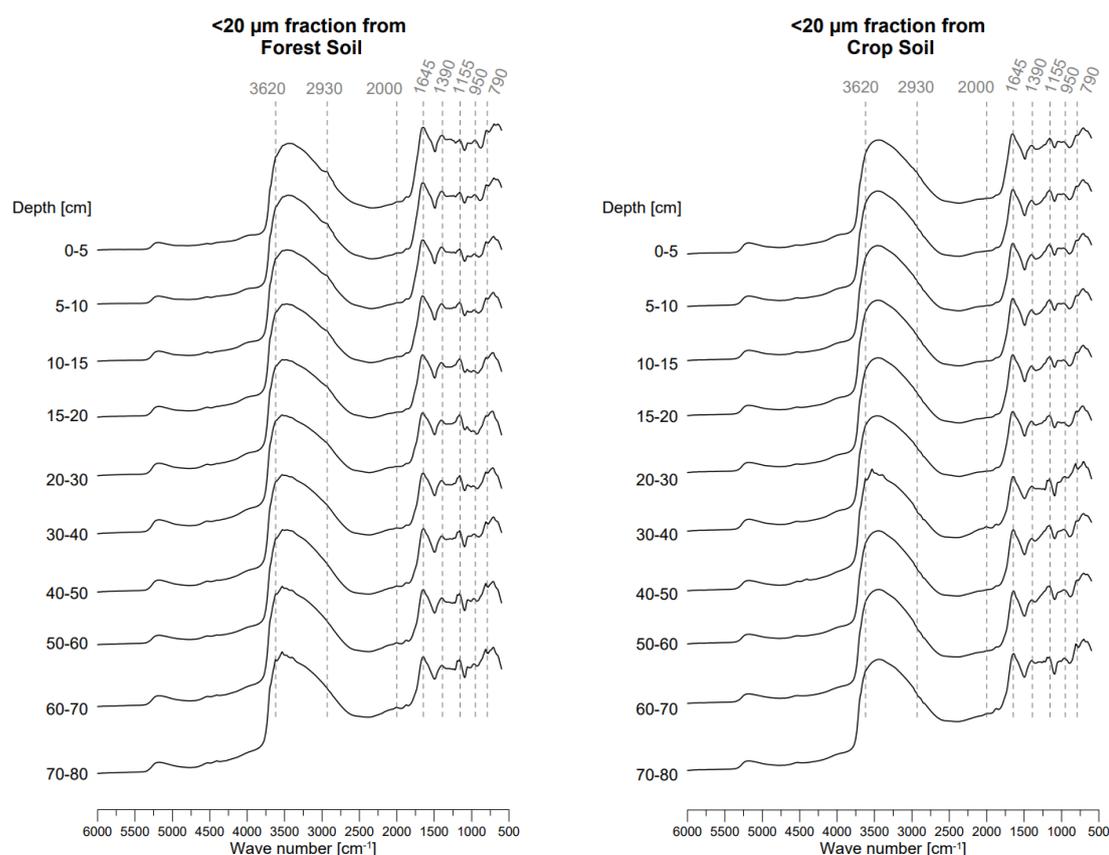


Figure A. Spectres MIR des fractions <20 µm du sol en forêt et cultivé. Echelle linéaire d'amplitude identique pour tous les spectres.

- Baldock, J. A., S. R. McNally, M. H. Beare, D. Curtin, B. Hawke, J. A. Baldock, S. R. McNally, M. H. Beare, D. Curtin, et B. Hawke. « Predicting Soil Carbon Saturation Deficit and Related Properties of New Zealand Soils Using Infrared Spectroscopy ». *Soil Research* 57, n° 8 (24 octobre 2019): 835-44. <https://doi.org/10.1071/SR19149>.
- Guillou, F. Le, W. Wetterlind, R. A. Viscarra Rossel, W. Hicks, M. Grundy, et S. Tuomi. « How Does Grinding Affect the Mid-Infrared Spectra of Soil and Their Multivariate Calibrations to Texture and Organic Carbon? » *Soil Research* 53, n° 8 (23 novembre 2015): 913-21. <https://doi.org/10.1071/SR15019>.
- Gustafsson, J. P., P. Bhattacharya, D. C. Bain, A. R. Fraser, et W. J. McHardy. « Podzolisation Mechanisms and the Synthesis of Imogolite in Northern Scandinavia ». *Geoderma* 66, n° 3 (1 mai 1995): 167-84. [https://doi.org/10.1016/0016-7061\(95\)00005-9](https://doi.org/10.1016/0016-7061(95)00005-9).
- Gustafsson, Jon Petter, Prosun Bhattacharya, et Erik Karlton. « Mineralogy of Poorly Crystalline Aluminium Phases in the B Horizon of Podzols in Southern Sweden ». *Applied Geochemistry* 14, n° 6 (1 août 1999): 707-18. [https://doi.org/10.1016/S0883-2927\(99\)00002-5](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(99)00002-5).
- Inoue, K., et P. M. Huang. « Influence of Citric Acid on the Natural Formation of Imogolite ». *Nature* 308, n° 5954 (mars 1984): 58-60. <https://doi.org/10.1038/308058a0>.
- Karlton, Erik, Derek C Bain, Jon Petter Gustafsson, Hannu Mannerkoski, Enver Murad, Ursel Wagner, Anthony R Fraser, William J McHardy, et Mike Starr. « Surface reactivity of poorly-ordered minerals in podzol B horizons ». *Geoderma* 94, n° 2 (1 février 2000): 265-88. [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(98\)00141-4](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(98)00141-4).
- Levard, C., E. Doelsch, I. Basile-Doelsch, Z. Abidin, H. Miche, A. Masion, J. Rose, D. Borschneck, et J. -Y. Bottero. « Structure and distribution of allophanes, imogolite and proto-imogolite in volcanic soils ». *Geoderma* 183-184 (1 août 2012): 100-108. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2012.03.015>.
- Linder, Per, et Lars Östlund. « Structural changes in three mid-boreal Swedish forest landscapes, 1885–1996 ». *Biological Conservation* 85, n° 1 (1 juillet 1998): 9-19. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(97\)00168-7](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(97)00168-7).
- Madejová, J. « FTIR techniques in clay mineral studies ». *Vibrational Spectroscopy* 31, n° 1 (15 janvier 2003): 1-10. [https://doi.org/10.1016/S0924-2031\(02\)00065-6](https://doi.org/10.1016/S0924-2031(02)00065-6).
- Nguyen, T. T., L. J. Janik, et M. Raupach. « Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform (DRIFT) Spectroscopy in Soil Studies ». *Soil Research* 29, n° 1 (1991): 49-67. <https://doi.org/10.1071/sr9910049>.
- Parfitt, R. « PARFITT, R.L. 1990: Allophane in New Zealand. A Review. Australian Journal of Soil Research 28:343 360. » *Australian Journal of Soil Research* 28 (1 janvier 1990): 243.
- Parikh, Sanjai J., Keith W. Goynes, Andrew J. Margenot, Fungai N. D. Mukome, et Francisco J. Calderón. « Chapter One - Soil Chemical Insights Provided through Vibrational Spectroscopy ». In *Advances in Agronomy*, édité par Donald L. Sparks, 126:1-148. Academic Press, 2014. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800132-5.00001-8>.
- Sila, Andrew M., Keith D. Shepherd, et Ganesh P. Pokhariyal. « Evaluating the utility of mid-infrared spectral subspaces for predicting soil properties ». *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 153 (15 avril 2016): 92-105. <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2016.02.013>.
- Terra, Fabrício S., José A. M. Demattê, et Raphael A. Viscarra Rossel. « Spectral libraries for quantitative analyses of tropical Brazilian soils: Comparing vis-NIR and mid-IR reflectance data ». *Geoderma* 255-256 (1 octobre 2015): 81-93. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.04.017>.
- Wada, Koji, et M. E. Harward. « Amorphous Clay Constituents of Soils ». In *Advances in Agronomy*, édité par N. C. Brady, 26:211-60. Academic Press, 1974. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60872-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60872-X).
- Yoshinaga, Naganori, et Shigenori Aomine. « Imogolite in some ando soils ». *Soil Science and Plant Nutrition* 8, n° 3 (1 mai 1962): 22-29. <https://doi.org/10.1080/00380768.1962.10430993>.
- Zysset, M., P. Blaser, J. Luster, et A. U. Gehring. « Aluminum Solubility Control in Different Horizons of a Podzol ». *Soil Science Society of America Journal* 63, n° 5 (1 septembre 1999): 1106-15. <https://doi.org/10.2136/sssaj1999.6351106x>.

### 3. Chapitre 3 : Quantification de C issu de fertilisants organiques et impact sur le C du sol



*Un premier sous-chapitre discute de la potentialité du traçage isotopique  $^{13}\text{C}$  afin de quantifier le C issu de fertilisants organiques (OF-C) dans des essais agronomiques sur le 0-15 cm de profondeur, en conditions tropicales (Ile de Réunion). Les premières données ont été acquises durant mon stage de Master 1 (2017-2018, encadrement : **Antoine Versini**, **Jérôme Balesdent** et **Isabelle Basile-Doelsch**) ensuite ces données ont été complétées au cours de ma thèse et valorisées sous la forme d'un article publié dans *Isotopes in Environmental and Health Studies* (Jamoteau et al., 2021).*

*Un second sous-chapitre fait un bilan de quantification du devenir du OF-C sur ces mêmes essais agronomiques, après 15 ans d'apports mais cette fois jusqu'à 1 m de profondeur. Les sols ont aussi été étudiés à l'échelle de l'ensemble du profil suivant trois fractions granulométriques afin d'étudier la dynamique du OF-C dans ces fractions et son impact sur les MO endogènes.*



### 3A. Les isotopes stables peuvent-ils quantifier le C issu des fertilisants organiques ?



### *Can stable isotopes quantify soil carbon build-up from organic fertilizers?*

*L'article publié dans la revue Isotopes in environmental and health studies est mis en forme avec la mise en page de la thèse pour des raisons de droit d'auteur.*

*Article published in the journal Isotopes in environmental and health studies. The formatting is the same as the thesis for copyright reasons.*

*Les personnes impliquées ainsi que leurs contributions respectives à ce sous-chapitre de thèse sont listées ci-dessous. **Floriane Jamoteau** a effectué la sélection des échantillons, le broyage, les analyses de  $^{13}\text{C}$ , l'analyse et la rédaction de cet article. **Antoine Versini** a conçu l'expérience et effectué la sélection des échantillons, participé aux étapes de broyage, effectué l'analyse des résultats et la rédaction de cet article. **Jérôme Balesdent** a effectué les analyses de  $^{13}\text{C}$ , l'analyse des données, et a participé aux premières versions de l'article. **Isabelle Basile-Doelsch** a participé à la conception de l'expérience, à l'analyse des données et à la rédaction de cet article. **Emmanuel Tillard** a dirigé les essais agronomiques.*

*Mes pensées vont ici à **Jérôme Balesdent**, au grand pédologue et à l'homme généreux qu'il était. Les échantillons publiés dans cet article sont les derniers mesurés par Jérôme Balesdent, avec son spectro.*

### 3.1. Introduction

Ensuring high organic carbon contents in agricultural soils appears to be an effective way of meeting the triple challenge of food security, adaptation to climate change and mitigation of anthropogenic emissions (4p1000 initiative, (Soussana et al., 2019)). Organic fertilization—currently encouraged by the development of the circular economy—is a key means of increasing organic C stocks in agricultural soils. In agroecosystems benefitting from organic fertilizer (OF) amendments, there are three main sources of soil organic C (Figure 1): (1) native soil organic matter (SOM) (derived from C inputs preceding organic fertilization; initial-C), (2) carbon derived from crops (via aboveground and belowground C inputs provided by crops; crop-C), and (3) carbon from OFs (OF-C).

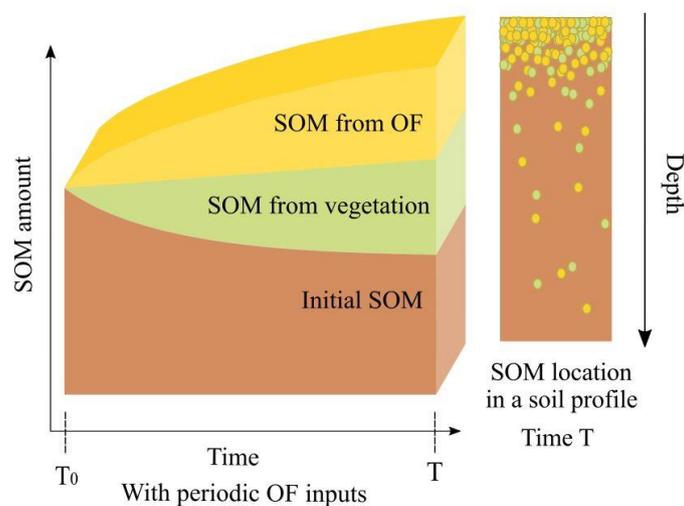


Figure 1. Schematic representation of carbon origins in experiments with organic inputs. Initial SOM reflects the C pool before the start of the experiment. SOM from OF are displayed in yellow, SOM from vegetation in green and initial SOM in brown.

Carbon isotope methods using  $^{14}\text{C}$  isotopes (Trumbore, 1993; Mathieu et al., 2015) or stable  $^{13}\text{C}$  isotopes (Balesdent et al., 1987; Boutton et al., 1998; Glaser, 2005) help track the fate of C in various ecosystems. There are natural variations in the  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratio according to the photosynthesis pattern in two types of plants:  $\text{C}_3$ -plants with a  $\delta^{13}\text{C}$  value in the -29 to -25 ‰ range, and  $\text{C}_4$ -plants with a  $\delta^{13}\text{C}$  value in the -16 to -12 ‰ range (O’Leary, 1988; Balesdent and Mariotti, 1996). These natural  $\delta^{13}\text{C}$  variations can also be attributed to various factors as stomata regulation by microclimate or nitrogen availability (Farquhar et al., 1989; Gebauer et al., 1987) or carbon gain from mycorrhizal fungi (Gebauer et al., 2016; Giesemann et al., 2020a, 2020b).  $\delta^{13}\text{C}$  has been used to quantify carbon changes throughout soil profiles, leading to a C age distribution to 1 m depth (Balesdent et al., 2018), but also on various soil components and soil fractions (Jastrow et al., 1996; Liao et al., 2006; Bol et al., 2009). Quantification of OF-C contribution is generally calculated by a stock difference or comparison: the C stock in the control soil at a given depth (often 0-30 cm) is subtracted from the C stock in the fertilized soil at an equivalent depth (Lou et al., 2011; Paetsch et al., 2016; Liu et al., 2018; Liang et al., 2019).

But the C-stock difference does not take into account the effect of OFs on native SOM mineralization rates (i.e. so-called priming effect) neither crop-C inputs if vegetation's changes occurred (Kuzyakov et al., 2000; Fontaine et al., 2003). In the same way that isotope mass budget are used to trace C<sub>3</sub>/C<sub>4</sub> vegetation changes,  $\delta^{13}\text{C}$  can be used to monitor long-term carbon inputs and OF impacts on soil carbon (Angers and Giroux, 1996; Balesdent, 1998; Balesdent and Mariotti, 1996; Dignac et al., 2005; Rasse et al., 2006). However, isotope mixing budgets can be applied only if the isotope resolution limit is reached (i.e there is a statistical significant difference between isotope signatures of the end-members) and if the sensitivity of the different parameters of the isotope equation is analyzed (Balesdent and Mariotti, 1996).

Several studies that have quantified OF-C using the isotope method are summarized in Table 1 as a function of the experimental duration and sampling frequency. Short-term experiments (up to 120 days) have been carried out using field experimental designs (Amelung et al., 1999; Bol et al., 2000; Glaser et al., 2001; Carpenter-Boggs et al., 2014) as well as in mesocosms (through  $\delta^{13}\text{C}$  of CO<sub>2</sub>; Rochette et al., 2000; Angers et al., 2007). Two stages of decomposition processes were observed over time (Rochette et al., 2000; Glaser et al., 2001): a first stage corresponding to the biodegradation of a readily available and more liquid phase accumulated over time in the upper soil; a second phase, 48 h after OF amendment, corresponded to the biodegradation of the slurry solid phase (Glaser et al., 2001).

However, only few isotope studies have been focused on long-term OF retention (Gerzabek et al., 1997; Kristiansen et al., 2005; Nicoloso et al., 2018; Thomsen and Christensen, 2010). All of them, except Nicoloso et al., 2018, focused on a temperate climatic zone. Long-term single quantification experiments have been conducted over 1 year (Lynch et al., 2006), 25 years (Nicoloso et al., 2018) and 42 years (Gerzabek et al., 2001). However, single quantification did not reveal temporal changes in soil C dynamics over time. Long-term chronosequence experiments have also been carried out (Gerzabek et al., 1997; Kristiansen et al., 2005; Thomsen and Christensen, 2010). Kristiansen *et al.* (2005) and Thomsen and Christensen (2010) used aboveground fresh maize biomass and sheep faeces to amend four Danish fields (including an Alfisol Hapludalf and an Inceptisol Orchrept) over periods of 9 and 14 years, respectively (with total input of 32,000 to 51,100 kg C.ha<sup>-1</sup>). Gerzabek *et al.*, 1997 applied animal manure on a Swedish Eutric Cambisol over 42 years (with total input of 84 000 kg C.ha<sup>-1</sup>) (Table 1). These studies showed: (1) that OF- $\delta^{13}\text{C}$  may vary in long-term experiments (Gerzabek et al., 1997), and (2) that C derived from OFs and vegetation had jointly contributed 13-55 % of the soil C at the end of the experiments (Gerzabek et al., 1997; Kristiansen et al., 2005; Thomsen and Christensen, 2010).

To the best of our knowledge, no long-term chronosequence studies involving the <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C isotope proxy have been performed in tropical or subtropical environments to track the fate of OF-C in soils. Natural variations in <sup>13</sup>C are highly prevalent in tropical areas under C<sub>3</sub> forests and C<sub>4</sub> crops. As mineralization and degradation processes are faster in tropical conditions, the isotope method should be relevant for studying long-term dynamics of OF-C incorporation into tropical soils. A 13-year grassland trial was conducted on an Arenosol and on an Andosol with repeated fertilization using slurry and

compost in a tropical area (Réunion, France). We tested the applicability of the  $^{13}\text{C}$  isotope method for quantifying soil C inputs through long-term OF amendments in tropical soils. Three quantification methods were tested in this study: (1) the widespread differential method; (2) the isotope budget in a synchronous calculation system with a comparison of amended and unamended control plots (the synchronic method) and (3) the isotope budget in an asynchronous system with amended plots and plots at the start of the experiment (asynchronic method, experimental design without control plots).

Table 1. Summary of similar OF-C estimation experiments using <sup>13</sup>C isotopes from the literature. \*C proportion estimation using C3 of -27‰ and C4 of -13‰ and not the soil at the beginning of the experiment or without OF. \*\*Estimation by linear regression (see Figure 1).

Sampling frequency	Publication	Location	Soil type	Sampled depth	Type of OF applied	Time of experiment	Number of OF applications through time	δ <sup>13</sup> C of sources			OF-C in the soil at the end of the experiment	Total OF-C spread	Retention of OF-C	Total OF-C in soil
								OF	Vegetation	Soil at the beginning of the experiment or without OF				
				[cm]				[‰ VPDB]	[‰ VPDB]	[‰ VPDB]				
Single	Amelung et al., 1999	North Wyke, Devon, southwest of England	Gleyic cambisol	1 - 5	C3 dung	70 days	Single	-25.6	-27.4	-	Results on fractions only			
					C4 dung			-15.4	-27.4	-				
	Bol et al., 2000	North Wyke, Devon, southwest of England	Gleyic cambisol	1 - 5	C3 dung	150 days	Single	-25.7	-27.4	-27.9	-	14,900	-	-
					C4 dung			-15.4	-27.4	-27.9	11		12.6	1,877
	Gerzabek et al., 2001	Uppsala, Sweden	Eutric Cambisol	0 - 20	Green manure	42 years	Continuous	-27.3	C3	-26.03	Results on fractions only			
					Animal manure			-27.5	C3	-26.03				
					Peat			-25.6	C3	-26.03				
					Sewage sludge			-25.5	C3	-26.03				
	Glaser et al., 2001	North Wyke, Devon, southwest of England	Dystric gleysol	0 - 2	C3 dung	14 days	Single	-30.7	C3	-30	-	-	-	-
					C4 dung			-21.3	C3	-30	<1 (0.11)	1,100	36	396
	Lynch et al., 2006	Marshwind Farm, Masstown, Truro, Nova Scotia, Canada	Orthic humoferric podzol	0 - 5	Composting corn silage	1 year after applications	Spread over 1 year	-14.0	C4	-28.03	33	9,200	89	8,188
					Dairy manure compost			-26.6	C4	-28.03	19	10,000	42	4,200
Sewage sludge compost					-25.9			C4	-28.03	32	10,900	63	6,867	
Liquid dairy manure					-27.3			C4	-28.03	-	2,900	-	-	
Carpenter-Boggs et al., 2014	Washington university, Puyallup Research and extension center, USA	Mesic Fluventic Haploxerolls	0 - 15	Dairy manure	120 days	Single	-20.9	-30.0	-26.9	<0.01	2,722	-	-	
Nicoloso et al., 2018	North farm of Kansas University, Manattan, USA	Well-drained Kennebec silt loam	0-5; 5-15; 15-30	Chilled tillage, additions of fresh cattle manure (from year 0 to 12) and composted organic waste (from year 13 to 25)	25 years	continous	-25.9 to -27.3 (estimated from litterature)	C4 (converted in year 0 from C3 crop)	Year 2 after OF spreading :-18.9 to -19.1 (0-5 cm); -15.8 to -16.5 (15-30 cm)	-	98,800	27*	26,300*	
				No tillage, additions of fresh cattle manure (from year 0 to 12) and composted organic waste (from year 13 to 25)						-		12*	11,900*	

Sampling frequency	Publication	Location	Soil type	Sample depth	Type of OF applied	Time of experiment	Number of OF applications through time	$\delta^{13}\text{C}$ of sources			OF-C in the soil at the end of the experiment	Total OF-C spread	Retention of OF-C	Total OF-C in soil			
								OF	Vegetation	Soil at the beginning of the experiment or without OF							
								[‰ PDB]	[‰ VPDB]	[‰ VPDB]							
[cm]																	
Chrono-sequence	Gerzabek et al., 1997	Uppsala, Sweden	Eutric Cambisol	0 - 20	Green manure	42 years	Continuou s	-27.3	C3	-26.03	-	-	-	-			
					Animal manure			-27.5	C3	-26.03	55	84,000	0	30,131			
					Peat			-25.6	C3	-26.03	-	-	-	-			
	Kristiansen et al., 2005	Soil from Lundgaard in Askov, Denmark	Sand	0 - 20	Above ground fresh maize biomass	14 years	Continuou s	-10	C4	-27.2	25	51,100	11	5,621			
											18		14	7,154			
											27		14	7,154			
											31		15	7,665			
	Thomsen and Christensen, 2010	Soil from Lundgaard in Askov, Denmark	Sand	0 - 20	Above ground fresh maize biomass	9 years	Continuou s	-12.0	C4	-27.5	15	32,000	19	6,080			
					Sheep faeces						22		30	9,600			
		Askov, Denmark	Sandy loam		Above ground fresh maize biomass						-12.0		C4	-27.5	13	19	6,080
					Sheep faeces										22	30	9,600
	This study	Saint-Joseph, La Réunion island, France (near Madagascar)	Arenosol	0 - 15	Bovine manure compost	13 years	Continuou s	-20.3	-14.0	-18.2 to -17**	57	117,800	23	27,094			
					Bovine slurry						41	256,900	8	20,552			
		Le plaine des cafres, La Réunion island, France (near Madagascar)	Andosol		Bovine manure compost						-20.3	-27.8	-24.3 to -23.8**	41	117,800	36	42,408
					Bovine slurry									-24.4	-27.8	-24.3 to -23.8**	-

## 3.2. Material and methods

### 3.2.1. Study sites

The experiment was conducted on the volcanic island of Réunion (Indian Ocean) on two different soils (USS Working Group WRB, 2015): (1) an Arenosol, i.e. a typically sandy soil located in the southwestern part of the island around Saint-Joseph (21°22'57" S; 55°36'28" E), 10 m a.s.l with about 1000-1500 mm rainfall and mean annual temperature of 23.3°C. The soil was under *Chloris*, *Paspalum* and *Panicum* cover (C<sub>4</sub>-plants); (2) an Andosol, i.e. a soil containing imogolite type material which are nanometric aluminosilicates resulting from the alteration of volcanic glasses, located in the southern-central part of the island (21°12'60" S; 55°34'45" E) around La Plaine des Cafres, 1,600 m a.s.l with about 1500 to 2000 mm rainfall and a mean annual temperature of 14.2°C. The soil was under *Festuca*, *Dactylis* and *Bromus* cover (C<sub>3</sub>-plants).

### 3.2.2. Experimental design

For both sites, the experimental design included three different fertilization treatments applied from 2005 to 2017 and repeated in three block. Plots measured 3.6 m<sup>2</sup> and were separated by 0.3 m wide edge strips (Figure S1). The composition of the three treatments were: bovine manure compost and bovine slurry as two OF treatments and mineral fertilization as control treatment. For convenience, bovine manure compost and bovine slurry are respectively called compost and slurry hereafter. OFs were applied on plots when pastures were harvested (6-8 times per year). OF inputs were estimated at around 9,060 kg C.ha.<sup>-1</sup>yr<sup>-1</sup> for bovine manure compost and 19,760 kg C.ha.<sup>-1</sup>yr<sup>-1</sup> for bovine slurry (considering a mean of seven applications). The same amount of the same OF was applied at both sites (Table 2). Mineral fertilization consisted of 120 kg of mineral N. No carbon was added in this mineral fertilization modality so these plots were considered as controls in the isotope calculations. C in control plot soils thus included C from the initial SOM and C input from vegetation throughout the experiment (Figure 1).

### 3.2.3. Soils and organic fertilizers sampling

Amended soils and control soils were sampled yearly from years 3 to 13 (experiment started at year 0, i.e. 2004) for the Arenosol and from years 1 to 13 for the Andosol. The top 15 cm of soil was sampled with an auger in November or October each year before OF application. OFs were sampled yearly from years 2 to 9. Soils and OF were dried at 60°C and sieved to 2 mm before storage at 20°C. Subsamples (5 g) were dried and ground in a mixer mill (MM400, Retsch) to ensure the overall representativeness of the analyzed samples.

As there was an insufficient quantity of remaining soil, control plot samples were not analysed from the Arenosol block 1 in year 3, from the Andosol block 3 in year 10 and control plots from the three Andosol blocks in year 2.

### 3.2.4. C analyses and C stock calculations

The carbon content was measured on air dried samples using elemental analyzer isotope ratio mass spectrometry (Flash EA 1112 Series and ThermoFinnigan DELTAplus IRMS). 10-20 mg and 3-6 mg samples were analyzed for the Arenosol and the Andosol, respectively. IAEA-CH-6 was used as a control of the measurement accuracy and IAEA-CH-7 as an international lab standard (Coplen et al., 2006). Analyzed soil humidity ranged about 1.7 % on the Arenosol and 8.9 % on the Andosol (dried at 105°C). Thus, a carbon content correction link to residual water were perform following the C analysis

Soil carbon stocks were assessed by equation (1).

$$S = \rho * e * C \quad (1)$$

where  $S$  is the stock in kg C.m<sup>-2</sup>,  $\rho$  is the bulk density in g.cm<sup>-3</sup>,  $e$  is the soil thickness (0.15 m) and  $C$  is the carbon content in g C.kg<sup>-1</sup> soil. Bulk density measurements were performed on the Arenosol (5-10 cm) in year 0 and year 14 and on the Andosol (0-10 cm) in year 3 and year 16. We used the Alexander law to estimate the bulk density over time (equation 2, Figure S2, Alexander, 1980). Alexander coefficients underwent least squares adjustment on carbon linear regression data, by fitting both measured values in each soils.

$$\rho = A_{coef} - A_{slope} * \sqrt{C} \quad (2)$$

with  $A_{coef}$  Alexander coefficient,  $A_{slope}$  the Alexander slope and  $C$  the total carbon content in gC.kg<sup>-1</sup> soil. The bulk density data are given in Figure S2.

### 3.2.5. $\delta^{13}\text{C}$ analysis and $\Delta\delta^{13}\text{C}$ calculations

$\delta^{13}\text{C}$  Isotope measurements were done using the same elemental analyzer isotope ratio mass spectrometry procedure as for the carbon content analysis. IAEA-CH-6 (-10.5 ‰) was used for calibration and IAEA-CH-7 as measurement of precision (control yielded as mean of -32.15±0.15 ‰) (Coplen et al., 2006).  $\delta^{13}\text{C}$  was calculated as follows:

$$\delta^{13}\text{C}(\text{‰}) = \left( \frac{\left( \frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} \right)_{\text{sample}}}{\left( \frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} \right)_{\text{reference}}} - 1 \right) \quad (3)$$

VPDB was used as reference standard for  $\delta^{13}\text{C}$  units.

$\Delta\delta^{13}\text{C}$  is the difference between initial  $\delta^{13}\text{C}$  of control plots at year 0 ( $\delta^{13}\text{C}_{CTL\text{soil}T0}$ , CTL stands for control) and vegetation  $\delta^{13}\text{C}$  ( $\delta^{13}\text{C}_{veg}$ ) or difference between  $\delta^{13}\text{C}_{CTL\text{soil}T0}$  and OF- $\delta^{13}\text{C}$  ( $\delta^{13}\text{C}_{OF}$ ) such as:

$$\Delta\delta^{13}\text{C}(\text{‰}) = \left| \delta^{13}\text{C}_{CTL\text{soil}T0} - \delta^{13}\text{C}_{veg} \text{ or } \delta^{13}\text{C}_{OF} \right| \quad (4)$$

### 3.2.6. Estimation of OF-C proportions in amended soils

Three methods for quantifying OF-C were tested in this study: the differential method (the most common), the synchronic isotope method and the asynchronous isotope method.

#### 3.2.6.1. Differential method

The differential method estimates the proportion of OF-derived carbon ( $f_{COF}$ , equation 5) by dividing the OF-C ( $C_{OF\text{soil}} - C_{CTL\text{soil}}$ ) by the total carbon of the amended plots ( $C_{OF\text{soil}}$ ).

$$f_{COF} = \frac{C_{OFsoil} - C_{CTLsoil}}{C_{OFsoil}} \quad (5)$$

The carbon stock (kgC.ha<sup>-1</sup> in 0-15 cm) derived from OF ( $S_{COF}$ ) was calculated with equation (6) where  $S$  is the total carbon stock (kg C.ha<sup>-1</sup>):

$$S_{COF} = S * f_{COF} \quad (6)$$

### 3.2.6.2. Synchronic isotope method

In the synchronic isotope method, the proportion of OF-derived C was calculated using the mixing model (7) (adapted from Balesdent *et al.*, 1987):

$$f_{COF} = \frac{\delta^{13}C_{OFsoil} - \delta^{13}C_{CTLsoil}}{\delta^{13}C_{OF} - \delta^{13}C_{CTLsoil}} \quad (7)$$

where  $f_{COF}$  is the proportion of OF-C,  $\delta^{13}C_{OFsoil}$  is the isotope signature of the amended soil,  $\delta^{13}C_{CTLsoil}$  is the isotope signature of soil under mineral fertilization and  $\delta^{13}C_{OF}$  is the isotope signature of the applied OF. By this synchronic method,  $f_{COF}$  was estimated on a yearly basis, with the same sampling year of  $\delta^{13}C_{CTLsoil}$  and  $\delta^{13}C_{OFsoil}$ . The carbon stock (kg C.ha<sup>-1</sup> in 0-15 cm) derived from OF ( $S_{COF}$ ) was calculated with equation 6.

In this study, samples from year 3 in block 1 were missing for the Arenosol, as well as from years 2 and 10 in block 3 for the Andosol. The calculation of  $f_{COF}$  was therefore not possible for those years.

### 3.2.6.3. Asynchronic isotope method

In the asynchronic isotope method, the proportion of OF-derived C was calculated by the mixing model (8) (adapted from Balesdent *et al.*, 1987) :

$$f_{COF} = \frac{\delta^{13}C_{OFsoil} - \delta^{13}C_{CTLsoilT0}}{\delta^{13}C_{OF} - \delta^{13}C_{CTLsoilT0}} \quad (8)$$

where  $f_{COF}$  is the proportion of OF-C,  $\delta^{13}C_{OFsoil}$  is the isotope signature of amended soil,  $\delta^{13}C_{CTLsoilT0}$  is the isotope signature of soil under mineral fertilization at year 0 and  $\delta^{13}C_{OF}$  is the isotope signature of the applied OF.

Samples from year 0 were missing, so we estimated the  $\delta^{13}C_{CTLsoilT0}$  of each plot using linear regressions (Figure 2). We performed a linear regression whereby all control plots for a given soil type were considered and kept the same slope but change the initial  $\delta^{13}C$  of year 0 block wise (Figure 2). Each control plot thus had its own  $\delta^{13}C$  estimation over time with linear regression being applied to reduce experimental variation (see Discussion part 4.1.2). The carbon stock (kgC.ha<sup>-1</sup> in 0-15 cm) derived from OF ( $S_{COF}$ ) was calculated with equation 6.

## 3.2.7. Statistical analysis and overcoming block effect

All statistical analyses were performed with *lm* and *t.test* functions of the R software package (R Core Team, 2016). To ensure the limit of resolution of the three methods (used in Figure 4), t-test were performed: between total C content of controls and amended plots for the differential method, between  $\delta^{13}C_{CTLsoil}$  and  $\delta^{13}C_{OFsoil}$  for the isotope method and between  $\delta^{13}C_{CTLsoilT0}$  and  $\delta^{13}C_{OFsoil}$  for the asynchronic isotope method. T-test between  $\delta^{13}C_{CTLsoil}$  and  $\delta^{13}C_{OF}$  were performed to discuss resolution and sensitivity analysis for isotope methods (see part 4.2).

### 3.2.8. Sensitivity analysis of the isotope mixing equation

We ranked the impact of each variable of the mixing equation 7. We first determined the percentage deviation from the mean (standard deviation divided by the mean on T13) for the three parameters:  $\delta^{13}\text{C}_{\text{OFsoil}}$ ,  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CTRLsoil}}$  and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{OF}}$ . Then we carried out a random selection of 1000 values for the three variables according to the deviation percentage calculated in T13. Using equation 7, 1000  $f_{\text{COF}}$  values were thus obtained for the Arenosol compost, Arenosol slurry and Andosol compost treatments.

The weight of each variable in the mixing equation was obtained thanks to the *anova* function in the R software package (R Core Team, 2016), using the 3x1000 random variables from  $\delta^{13}\text{C}_{\text{OFsoil}}$ ,  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CTRLsoil}}$  and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{OF}}$  and the  $\log(f_{\text{COF}})$ .

## 3.3. Results

### 3.3.1. Control soil C content and $\delta^{13}\text{C}$

The organic carbon content in Arenosol control plots (under mineralization) increased from  $10.5 \pm 0.0 \text{ g.kg}^{-1}$  in year 3 to  $17.9 \pm 1.8 \text{ g.kg}^{-1}$  in year 13. The control plots  $\delta^{13}\text{C}$  (Figure 2a) increased over time. According to linear regressions,  $\delta^{13}\text{C}$  increased from  $-18.2 \text{ ‰}$  to  $-16.8 \text{ ‰}$  in block 1, from  $-17.0 \text{ ‰}$  to  $-15.6 \text{ ‰}$  in block 2 and from  $-17.0 \text{ ‰}$  to  $-15.5 \text{ ‰}$  in block 3. The Arenosol controls showed the same overall variation pattern over time but with a slight shift in the initial value for estimated year 0. Including all block, the  $\delta^{13}\text{C}$  from year 0 ( $-18.2$  to  $-17 \text{ ‰}$ ) indicated that the organic matter content was from mixed  $\text{C}_3$  and  $\text{C}_4$  origins, with a predominance of  $\text{C}_4$ . Vegetation  $\delta^{13}\text{C}$  in this Arenosol trial was about  $-13.9 \text{ ‰}$  (Table 2).

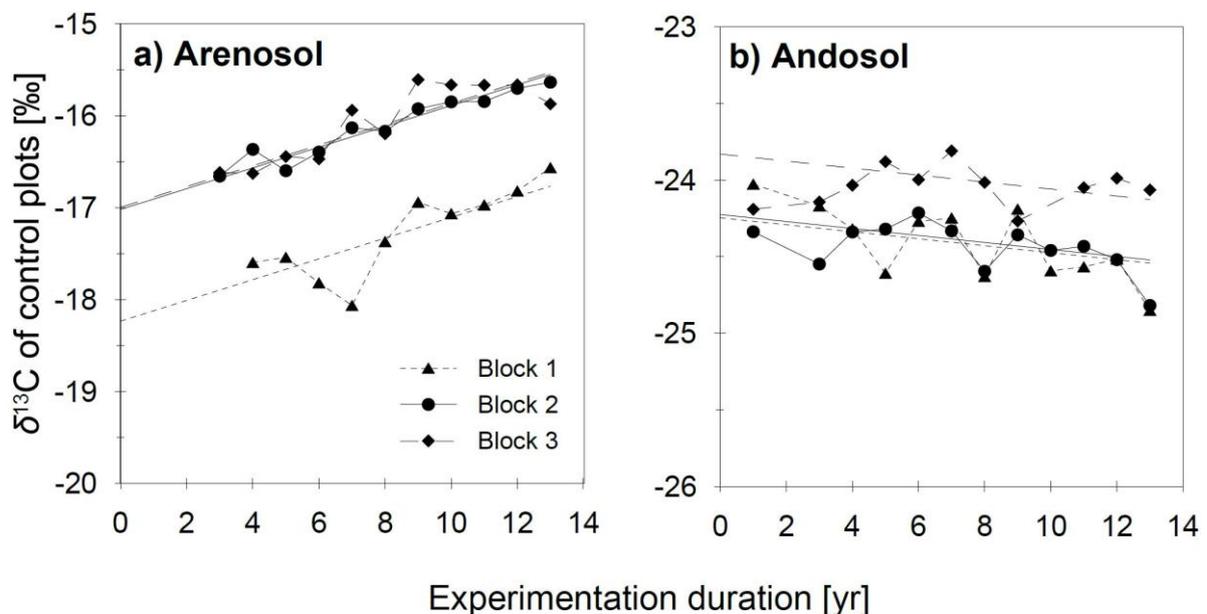


Figure 2. Variations in soil  $\delta^{13}\text{C}$  in control plots with mineral fertilization of: a) the Arenosol and b) the Andosol.  $\delta^{13}\text{C}$  is reported for topsoils (0-15 cm) in three experimental blocks (block 1: black triangles; block 2: open circles; block 3: black diamonds). Lines correspond to the linear regression of  $\delta^{13}\text{C}$  in each block, with a common slope for a given soil type.

The organic carbon content in Andosol control plots increased from  $112 \pm 7 \text{ g.kg}^{-1}$  in year 1 to  $126 \pm 7 \text{ g.kg}^{-1}$  in year 13. The control plot  $\delta^{13}\text{C}$  remained stable over time (Figure 2b). According to linear regressions,  $\delta^{13}\text{C}$  values were about  $-23.8 \text{ ‰}$  to  $-24.5 \text{ ‰}$  in the three blocks. Block 3 had a slight shift in the initial value for estimated year 0. Including all block, the  $\delta^{13}\text{C}$  from year 0 ( $-23.8$  to  $-24.1 \text{ ‰}$ ) indicated that the organic matter content was from mixed  $\text{C}_3$  and  $\text{C}_4$  origins, with a predominance of  $\text{C}_3$ . Vegetation  $\delta^{13}\text{C}$  in this Andosol trial was about  $-27.8 \text{ ‰}$  (Table 2).

### 3.3.2. Organic fertilizer $\delta^{13}\text{C}$

OF and trials vegetation characteristics are summarized in Table 2. The OF signatures were about  $-20.3 \pm 2.8 \text{ ‰}$  for compost and  $-24.4 \pm 1.3 \text{ ‰}$  for slurry over the eight study years (years 2 to 9; Table 2; Figure S3). In the Arenosol trial, the  $\delta^{13}\text{C}$  difference between the Arenosol (at T0) and applied organic fertilizers ( $\Delta\delta^{13}\text{C}$ ) were from  $2.9 \pm 0.4 \text{ ‰}$  with compost and  $6.9 \pm 0.4 \text{ ‰}$  with slurry. As OFs- $\delta^{13}\text{C}$  was from  $-24.4$  to  $-20.3 \text{ ‰}$  and vegetation- $\delta^{13}\text{C}$  of  $-13.9 \text{ ‰}$ , quantification of OF-C avoided C from vegetation in equation 7. Differences between  $\delta^{13}\text{C}_{\text{soilT0}}$  and OFs- $\delta^{13}\text{C}$  for the Arenosol trial were high enough for isotope OF-C quantification.

In the Andosol trial, the  $\delta^{13}\text{C}$  difference between the Andosol (at T0) and applied organic fertilizers ( $\Delta\delta^{13}\text{C}$ ) was about  $3.8 \pm 0.1 \text{ ‰}$  with compost and  $0.2 \pm 0.1 \text{ ‰}$  with slurry. As OFs- $\delta^{13}\text{C}$  was from  $-24.4$  to  $-20.3 \text{ ‰}$  and vegetation- $\delta^{13}\text{C}$  of  $-27.8 \text{ ‰}$ , quantification of OF-C avoided C from vegetation in equation 7. Differences between  $\delta^{13}\text{C}_{\text{soilT0}}$  and compost- $\delta^{13}\text{C}$  in the Arenosol trial were high enough for isotope OF-C quantification. However, as  $\delta^{13}\text{C}$  from  $\delta^{13}\text{C}_{\text{soilT0}}$  with slurry was close, isotope quantification of OF-C only failed.

Table 2. Quality and amount of carbon inputs from the two organic fertilizers applied and vegetation C data. The two organic fertilizers are averages of 8 samples from years 2 to 9. Vegetation is a single measurement.

	C air-dried matter	N Kjeldahl	Dry mass (105°C)	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{13}\text{C}$ temporal standard deviation	Annual input
	[g.kg <sup>-1</sup> ]	[g N.kg <sup>-1</sup> of dry mass 105°C]	[g.100 g <sup>-1</sup> ]	[‰ VPDB]	[‰ VPDB]	[kg C.ha. <sup>-1</sup> .yr <sup>-1</sup> ]
Bovine manure compost	213	22	46.7	(n=8) -20.3	2.8	9064
Bovine slurry	374	43	9.3	(n=8) -24.3	1.3	19760
C <sub>4</sub> vegetation in the Arenosol trial	417			(n=1) -13.9		
C <sub>3</sub> vegetation in the Andosol trial	414			(n=1) -27.8		

### 3.3.3. $\delta^{13}\text{C}$ and carbon content of OF-amended soils

The temporal change of  $\delta^{13}\text{C}$  of the Arenosol (Figure 3a) trial showed that amended soils diverged from controls over time. In year 3, mean  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  between controls to compost amended plots was about  $1.0\pm 0.2$  ‰ and in slurry amended plots about  $1.4\pm 0.05$  ‰. In year 13, mean  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  reached  $2.4\pm 0.3$  ‰ in compost amended plots and  $3.3\pm 0.1$  ‰ in slurry amended plots. In the Andosol trial, with regard to  $\delta^{13}\text{C}$ , only compost amended plots significantly differed from control plots over time (Figure 3b). In year 1, mean  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  between controls to compost amended plots was about  $0.9\pm 0.1$  ‰ (about  $0.3\pm 0.1$  ‰ in slurry amended plots). In year 13, mean  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  reached  $1.8\pm 0.1$  ‰ in compost amended plots ( $0.2\pm 0.0$  ‰ in slurry amended plots).

Meanwhile the total carbon content of the Arenosol increased from  $12.1\pm 1.3$  to  $38.6\pm 6.1$  g.kg<sup>-1</sup> between years 3 and 13 in the compost amended plots (Figure 4a) and from  $13.2\pm 1.4$  to  $29.5\pm 0.1$  g.kg<sup>-1</sup> in the slurry amended plots (Figure 4b). The total carbon content of the Andosol increased from  $111.3\pm 3.9$  to  $152.7\pm 5.9$  g.kg<sup>-1</sup> between years 1 and 13 in the compost amended plots (Figure 4c) and from  $107.1\pm 4.7$  to  $136.2.1\pm 6.9$  g.kg<sup>-1</sup> in the slurry amended plots (Figure 4d).

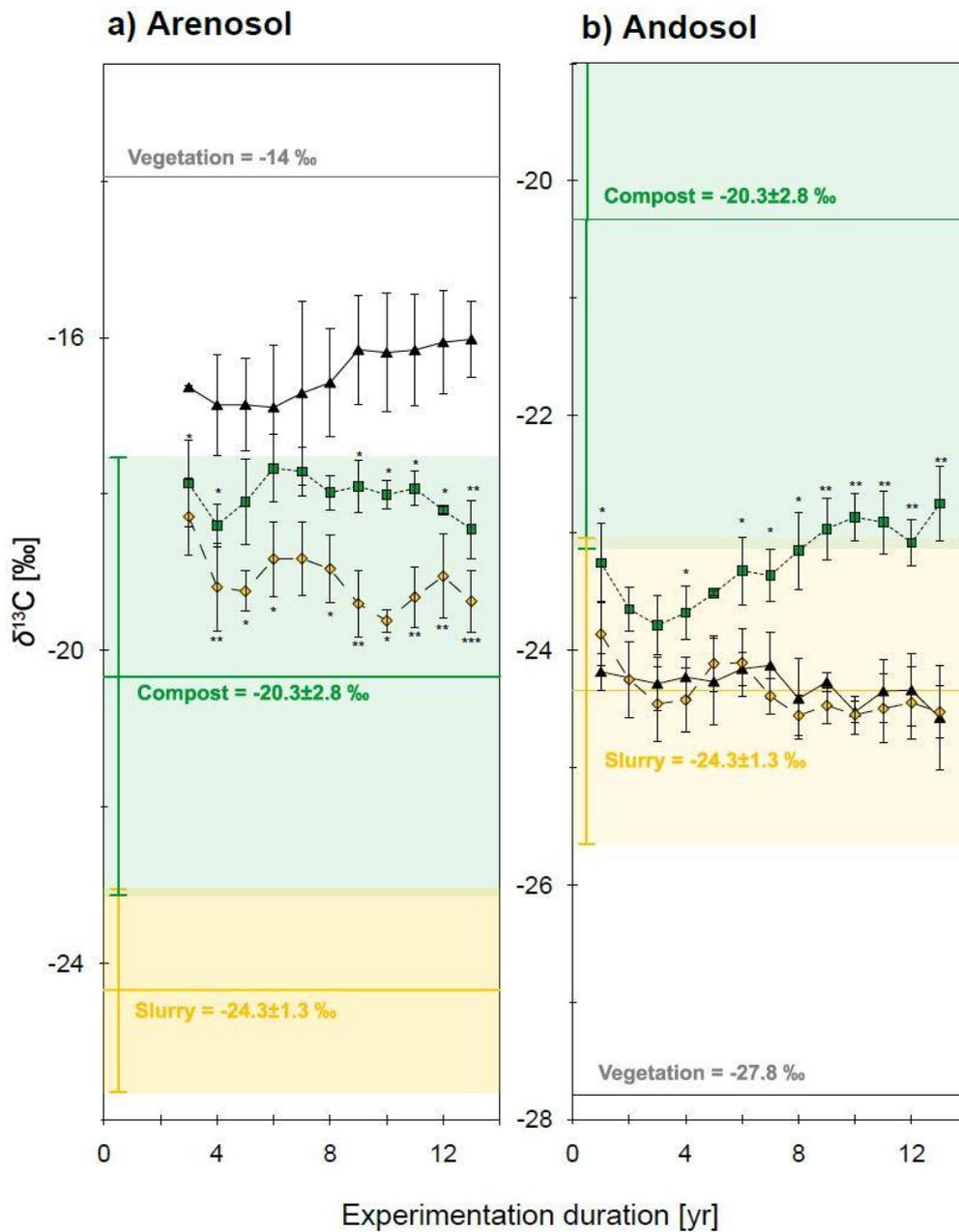
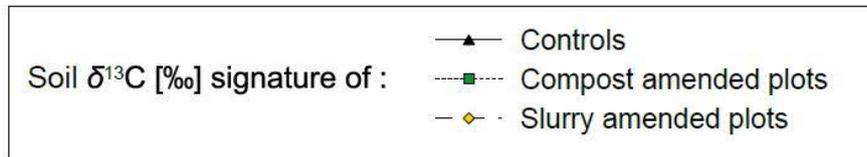


Figure 3. Variations in soil  $\delta^{13}\text{C}$  in plots amended with organic fertilizers implied on: a) the Arenosol and b) the Andosol. Topsoils (0-15 cm) receiving compost (squares) and slurry (diamonds) are compared to the control mean (triangles). Each point is the average of three blocks and error bars are  $\pm$  one standard deviation of 3 plots (one per block; only two blocks in year 3 in the Arenosol and year 10 in the Andosol).  $\delta^{13}\text{C}$  of OFs is displayed as a continuous line over time (green and yellow), the error bar is the standard deviation of values (n=8). (\*), (\*\*), and (\*\*\*) indicates p-value significant differences between controls and amended,  $P < 0.05$ ,  $< 0.01$  or  $< 0.001$ , respectively

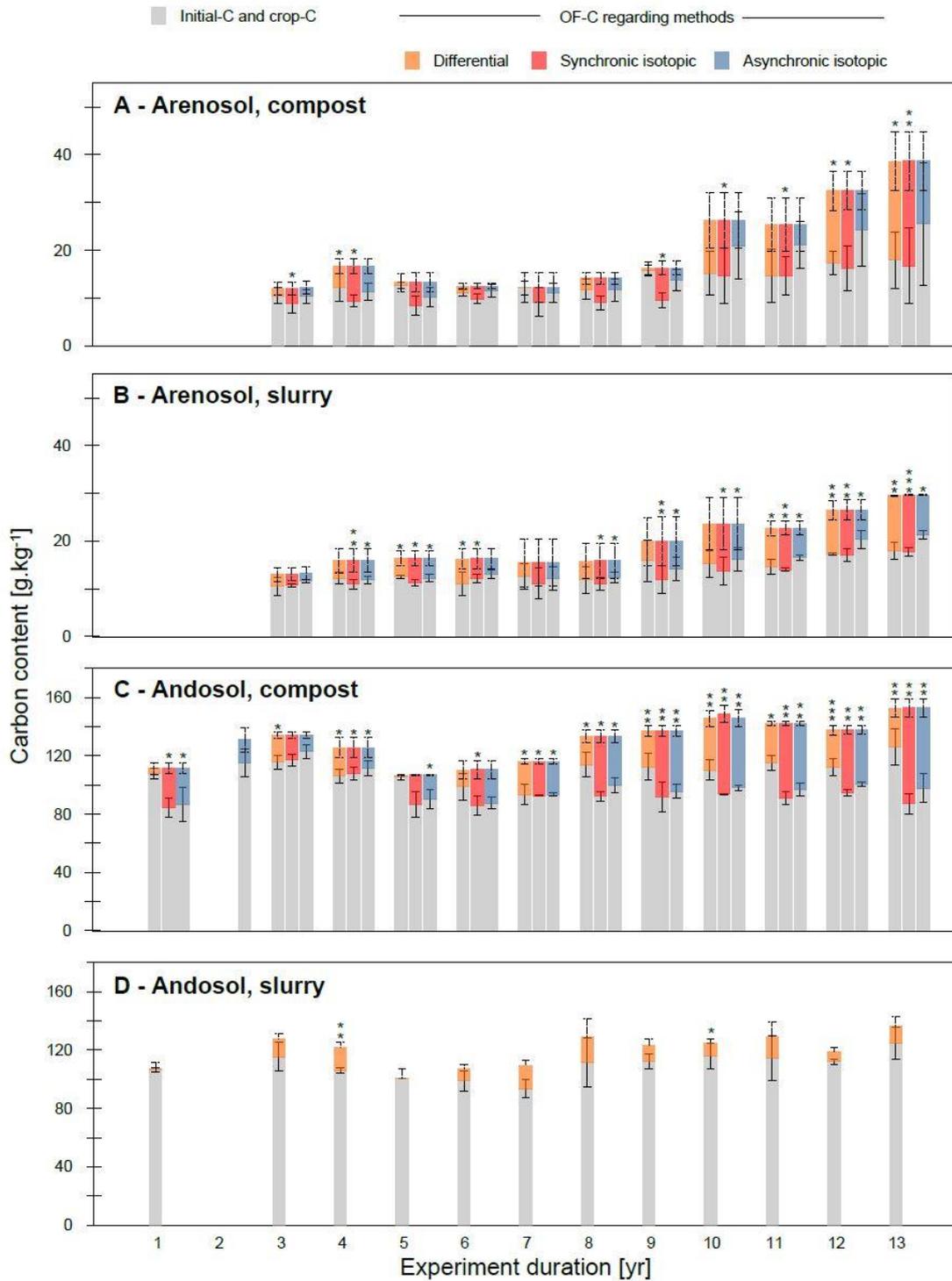


Figure 4. C content and origin of carbon in the Arenosol and Andosol topsoils (0-15 cm) according to the quantification method. The origin was inferred from the differential method (orange), synchronic isotope method (red) and asynchronic isotope method (blue). The dotted error bars are the standard deviation of three total C quantifications (only two blocks in year 3 for the Arenosol and year 10 for the Andosol). The solid line error bars are standard deviations of three OF-C quantifications. Negative OF-C values using the differential method were set at 0. (\*), (\*\*), And (\*\*\*) indicates the resolution limit of the methods by student t-test evaluation ( $P < 0.05$ ,  $<0.01$  or  $<0.001$ , respectively; see method par 3.2.7)

### **3.3.4. Quantification of soil OF-C via the differential, isotope synchronic and isotope asynchronous methods**

In Figure 4, to fully understand the significance of the three methods, we represented every quantification method and displayed its significance by t-test student using stars (see method part 2.7).

In the Arenosol with compost inputs, compost-C quantifications increased over time (Figure 4a), i.e. in year 13, 53 % with the differential method, 56 % with the synchronic isotope method and only 31 % with the asynchronous isotope method. The p-values were significant only in the final 2 years (years 12 and 13) with the differential method and from year 9 to 13 with the synchronic isotope method. In the Arenosol with slurry inputs, slurry-C contribution also increased over time (Figure 4b), i.e. in year 13, 39 % with the differential method, 40 % with the synchronic isotope method and only 28% with the asynchronous isotope method. The p-values were more significant in the final years for the three methods and the most significant using the synchronic isotope method. In the last year, in the Arenosol trial, the synchronic isotope methods estimated more OF-C than the other methods and was more p-values significant. The OF-C estimations were roughly the same for the differential method and lower for the asynchronous method.

In the Andosol with compost inputs, compost-C contribution also increased over time (Figure 4c), i.e. in year 13, 17 % with the differential method, 43 % with the isotope synchronic method and 36% with the asynchronous isotope method. The differential method revealed lower OF-C proportions over the years. All methods were p-value significant from year 7 to year 13, the last year all methods had the same significance. In the Andosol with slurry inputs, as it was not possible to use the isotope methods, OF-C was only estimated by the differential method (Figure 4d). Slurry-C did not significantly increase over time. In year 13, the estimation reached 8 % and the p-values were not significant.

Using the synchronic method and only significant quantifications years (Figure 4; p-values <0.05), the OF-C stock estimations were plotted against total OF inputs (Figure 5). OF-C content in the Arenosol was higher in compost amended plots than in slurry amended plots (23% and 8%, respectively). The final carbon stock in 0-15 cm (meaning retention percentage from linear regressions of Figure 5) in the compost amended Arenosol was about 27,094 kgC.ha<sup>-1</sup> and 20,552 kgC.ha<sup>-1</sup> with slurry inputs. Compost-C content in the Andosol was higher than in the Arenosol (36 % and 23 %, respectively). Andosol and Arenosol only differed with respect to the soil type and climatic conditions; the same compost was spread over this 13-year experiment. The final compost-C stock in the Arenosol reached 27,094 kgC.ha<sup>-1</sup> and 42,408 kgC.ha<sup>-1</sup> in the Andosol.

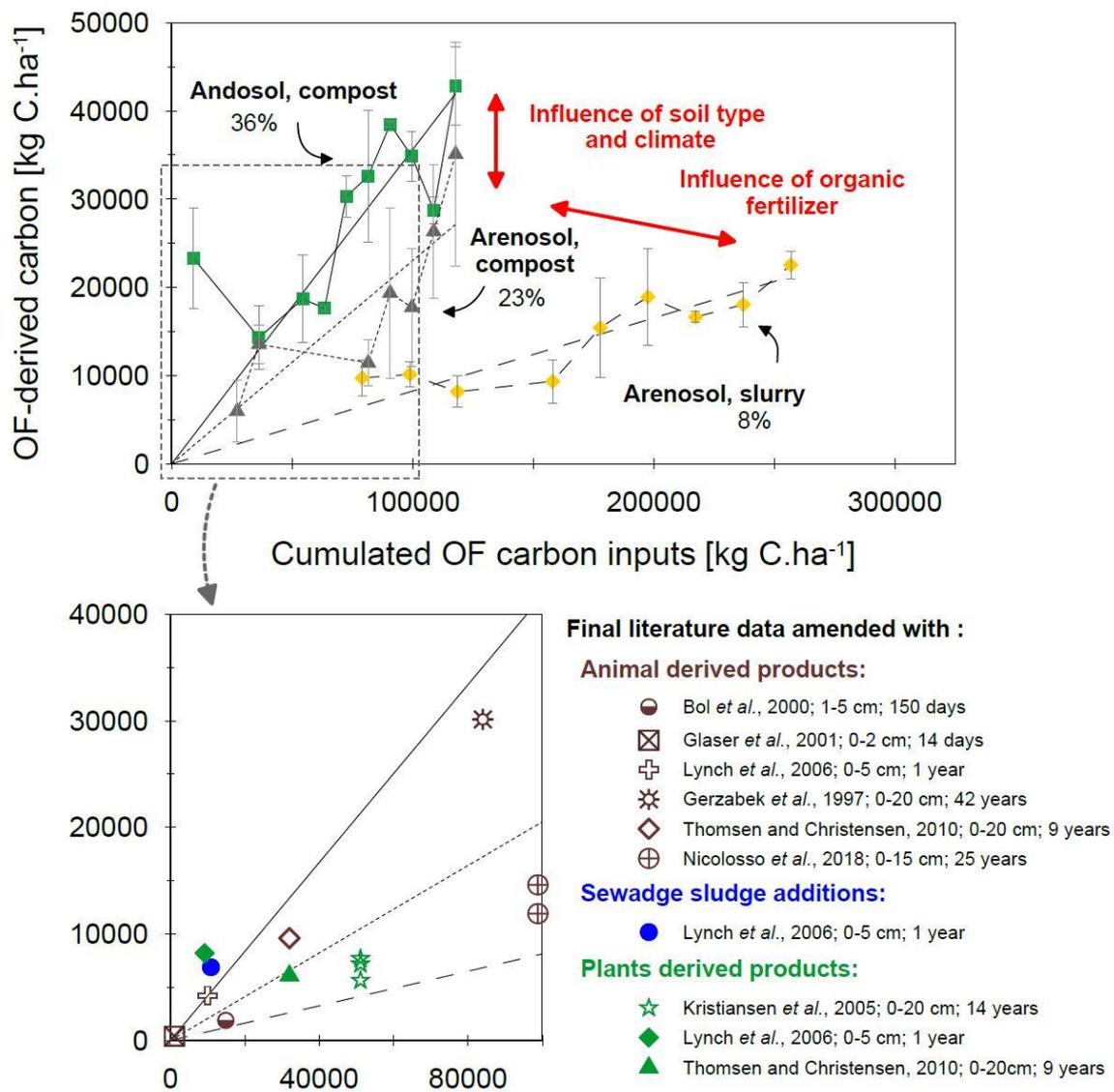


Figure 5. Carbon stock derived from organic fertilizers as a function of cumulated C inputs from organic fertilizer amendments (0-15 cm soil layer) using the synchronic isotope method. Linear model of the Andosol compost amended plots with retention of 36 % ( $R^2=0.93$ ), 23 % ( $R^2=0.94$ ) in the Arenosol and 8 % ( $R^2=0.98$ ) in the Arenosol slurry amended plot. Each point represents the average of the three plots and the error bars are the standard deviation (only two blocks in year 3 for the Arenosol and year 10 for the Andosol). The insert compares data from previous studies with the regression lines of the different modalities. Note that data from literature had a sampling horizon thickness ranging from 4 to 20 cm.

## 3.4. Discussion

### 3.4.1. Relevance of the 3 methods for quantifying OF contribution to SOM

#### 3.4.1.1. Isotope methods focusing on the direct effect of OFs on the SOM

The synchronic isotope method estimated more OF-C than the differential method in the Arenosol and Andosol trials (Figure 4). Lynch et al., 2006 also found that the synchronic isotope method estimated higher proportion of OF-C than the differential method among three fertilization treatments (i.e. corn silage compost, dairy manure compost and sewage sludge compost). This difference in OF-C proportion could be explained by two non-exclusive factors:

- (i) The repeated OF applications that may have modified the vegetation and its C inputs. It has been reported that OF can alter the plant community composition (Liu et al., 2009; Blumenthal et al., 2017) leading to different C inputs relative to control plots (De Deyn et al., 2008; Steinbeiss et al., 2018). In the Andosol trial, modification of the vegetation composition was revealed by the replacement of *Dactylis* (C<sub>3</sub> plant-group) in the mineral-fertilized control plots, and of *Bromus* (C<sub>3</sub> plant-group) in the plot with OF amendment (Tillard, pers. comm.). Lower belowground biomass production in the OF plots would likely result in underestimation of the direct OF contribution to SOM with the differential method (as measured in the Andosol, Figure 4c). In the Arenosol trial, the vegetation composition did not change during the experiment (Tillard, pers. comm.).
- (ii) Mineralization of the initial soil organic C (Figure 1) could be higher in the OF-amended plots, e.g. through a priming effect (Kuzyakov et al., 2000; Fontaine et al., 2003). The priming effect involves significant changes in soil organic matter renewal (Kuzyakov et al., 2000), possibly caused by OF input. The latter could accelerate mineralization of the initial C and thus gradually replace part of this fraction. In such cases, the direct contribution of the OF would be underestimated by the differential method. Organic fertilization is a common practice leading to considerable input of relatively labile C into agricultural soils. However, studies dealing with OF-induced SOM priming-effect remain very scarce most likely due to the methodological challenge of labeling OF with <sup>13</sup>C.

To conclude, the differential method based on total carbon did not allow quantification of OF-C regardless of vegetation changes or mineralization of initial soil organic C. The isotope method, on the other hand, measures the proportion of each element by the isotope signature. It can directly measure the fate of C contributed by OFs without artefacts related to indirect effects. Where the differential approach measures the overall effect of the organic fertilization practice, the isotope approach measures the fate

of C from the OF in the soil and ignores the indirect effects of the practice (e.g. changes of vegetation or priming).

#### **3.4.1.2. Synchronic isotope method taking into consideration SOM evolution in the control**

The synchronic isotope method estimated significantly more OF-C than the asynchronous isotope method in the Arenosol trial (Figure 4a-b). Differences were smaller in the Andosol trial (Figure 4c). The distinction between the asynchronous and synchronic method was the control value used in the mixing model (equations 7 and 8). By the asynchronous method, it was considered that the  $\delta^{13}\text{C}$  signature of the control soil over time was equal to the  $\delta^{13}\text{C}$  of the amended plot before OF application. By the synchronic method, the  $\delta^{13}\text{C}$  of the amended and control soils were measured on the same sampling date, on two adjacent plots. Variations in the control  $\delta^{13}\text{C}$  could thus be subtracted when implementing this method. A change in the  $\delta^{13}\text{C}$  pattern in the control soils over time was observed (Figure 2) and attributed to C input from vegetation (SOM from vegetation in Figure 1) during the experiment. The impact of the vegetation on control soil  $\delta^{13}\text{C}$  variation pattern was larger in the Arenosol than in the Andosol (Figure 3). The asynchronous method cannot integrate vegetation changes during the time of the experiment, which probably explain the high differences of C quantification observed between asynchronous and synchronic methods for the Arenosol. Due to the temporal changes in the controls, the synchronic method appeared therefore as the most accurate isotope method when control plots are available. The asynchronous method is nevertheless more cost-effective because there are fewer samples to analyse than with the synchronic method. The experiment is also simpler to implement because it does not require a control plot but just requires the soil signature prior to OF spreading. However, the asynchronous method can be used with confidence only if the soil is at isotope equilibrium (control plot  $\delta^{13}\text{C}$  constant over the course of the experiment).

In our case, the synchronic isotope method was better for determining the OF field potential to supply SOM. The differential method could be used to estimate the overall effect of organic fertilization, integrating both direct and indirect effects of OF applications. The differential method remains the simplest to carry out, whereas the isotope method can only be applied with an appropriate  $\delta^{13}\text{C}$  system (OF- $\delta^{13}\text{C}$  differentiated from other  $\delta^{13}\text{C}$  sources). Yet sometimes in case of minor OF-C inputs, the total carbon content is not enough to differentiate amended plots from controls (Bol et al., 2000).

#### **3.4.2. Resolution and sensitivity of the OF isotope method**

The synchronic isotope method was found to be the most suitable in our study, but certain precautions should be taken regarding its use. As stated by the pioneers of the  $^{13}\text{C}$  natural abundance method, it is necessary to ensure that the limit of resolution is exceeded and to assess the risk of bias due to error propagation (Balesdent et al., 1987; Balesdent and Mariotti, 1996).

The limit of resolution is reached when the effects of OF application on SOM is sufficiently strong that a significant difference in the considered parameter can be established between two samples. This requirement applies equally to the isotope method (parameter is  $\delta^{13}\text{C}$ ) and to the differential method (parameter is TOC). For the isotope method, it is therefore necessary to ensure that the  $\delta^{13}\text{C}_{\text{OF}}$  is significantly different from the  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CTRLsoil}}$ . Even more importantly, the  $\delta^{13}\text{C}_{\text{OFsoil}}$  and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CTRLsoil}}$  should be significantly different to compute from the mixing model the proportion of OF-derived soil-C at a given date. The first condition (t-test between  $\delta^{13}\text{C}_{\text{OF}}$  and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CTRLsoil}}$ ) was acquired for all sampled years. The second condition (t-test between  $\delta^{13}\text{C}_{\text{OFsoil}}$  and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CTRLsoil}}$ ) was not acquired for some years at the beginning of the experiment, which is why the final OF-C retention by isotopes was not calculated on these years (Figure 5). According to the isotope mixing equations (equations 7 and 8), the quantification accuracy is higher when the OF signature differs from that of the soil. The standard deviation of OF-C quantification between the three plots decreased as the  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  increases. The OF must have a high soil  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  and a stable temporal signature in time to ensure accurate quantification from the beginning of the experiment.

Whatever the number of repetitions performed, attention should be paid to the risk of bias due to the propagation of errors in the mixing equation (Balesdent and Mariotti, 1996). The sensitivity analysis (see part 2.8) of the mixing equation according to natural variations in the parameters revealed that the variable with the least impact was  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CTRLsoil}}$ , then  $\delta^{13}\text{C}_{\text{OFsoil}}$ , whereas  $\delta^{13}\text{C}_{\text{OF}}$  was the variable with the greatest impact (Table S2).

Variability in the  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CTRLsoil}}$ , although low, could be attributed to the block variability (Figure 2; block 1 for the Arenosol and block 3 for the Andosol). In the Arenosol trial, the maximum  $\delta^{13}\text{C}$  variation between blocks was up to 1.2 ‰ and up to 0.4 ‰ in the Andosol trial. This block variability revealed short-scale variability. The Arenosol trial was conducted in a high school test plot that had been cultivated for a long time. The cropping history may vary over short distances. A solution would be to process blocks independently. Reduce the distance between controls and OF amended plots could lower the  $\delta^{13}\text{C}$  spatial variability. Working on a per-block basis reduced our spatial variability but it would be essential to check a similar signature of the unamended plots prior to the first inputs.

The  $\delta^{13}\text{C}_{\text{OFsoil}}$  variability could also have two explanations. (i) The first concerns the sampling variability inherent to long-term trials (equipment and operator changes). This sampling variability may be reduced by linear regressions that average these values. (ii) And due to high OF incorporations, soil horizon must change over time (swelling) especially for andosol which have high OM-stabilization capacities (Basile-Doelsch et al., 2015; Levard et al., 2012). A 0-15 cm horizon sampled at the start of an experiment might not correspond to the same horizon 13-years later.

$\delta^{13}\text{C}_{\text{OF}}$  was the variable with the greatest impact on the equation. OFs applied to the soils over the 13 years of the experiment were subjected to temporal variations, with standard deviations of about 2.8 ‰ for the compost and 1.3 ‰ for the slurry (Figure S3). Such isotope variation was previously observed over 6 years by Gerzabek *et al.* (1997) (Gerzabek et al., 1997) in fields amended with green manure compost (standard deviation

about 1.12 ‰), animal manure (0.77 ‰) and peat (0.36 ‰). The composition of OF parent materials can be a major source of  $\delta^{13}\text{C}$  variation. A slight change in the livestock diet can have a marked impact on the  $\delta^{13}\text{C}$  of faeces. The  $\delta^{13}\text{C}$  of the plant fraction of the OF can also vary since compounds like lignin can be  $^{13}\text{C}$  depleted relative to other plant tissues (Benner et al., 1987; Cayet and Lichtfouse, 2001). Consequently, variations in parent material proportions over time (litter/faeces ratio) was probably a major source of variability for OF- $\delta^{13}\text{C}$  throughout the study. Another source of variability could be related to OF transformations that may occur during storage and the composting process, leading to isotope fractionation. C biotransformation might increase the  $\delta^{13}\text{C}$  ratio of OF during the composting process. Here with yearly quantification for 9 years out of 13, OF-variations factor was the largest of the 3 factors in the mixing model equation 7. Regular intra- and inter-annual  $\delta^{13}\text{C}$  analysis is therefore strongly recommended to ensure the validity of the results obtained with the mixing equation.

### **3.4.3. An isotope method to study the factor controlling soil OF-C sequestration**

This study case demonstrated that the synchronic isotope method can be used to investigate factors controlling OF-C retention.

Less compost-C was stabilized over time in the Arenosol as compared to the Andosol (23 % and 36 % retention, respectively), underlying the effect of the soil and the climate since the same amount of OF were applied at both sites. The impact of the soil type was suggested by Kristiansen *et al.* (2005), who reported a retention percentage ranging from 11 % to 15 % on four arable soils. In contrast, Thomsen and Christiansen (2010) did not observe any soil type influence. In our study, the Réunion Andosol contains poorly crystalline material (Levard et al., 2012) while storing large amounts of organic matter that has a low renewal rate (Basile-Doelsch et al., 2015). The soil type-dependent retention could be explained by the high retention capacity of the Andosol compared to the Arenosol, but it could also be explained by the cooler climatic conditions that prevailed in the Andosol plot, with higher rainfall than in the Arenosol plot. Cooler climatic conditions can induce slower organic matter decomposition and renewal in soils and thus slower organic matter mineralization. The combined effect of the soil mineralogy and climate affected the long-term stabilization (13 years) of the applied OFs, with higher stabilization in the Andosol trial.

Furthermore, the Arenosol trial showed a retention of 8% for the slurry but of 23% for the compost, demonstrating a second impact related to the quality of the OF. A difference in retention related to the OF nature was also observed by Lynch *et al.* (2006) and Thomsen and Christensen (2010). Lynch *et al.* (2006) observed higher retention for corn silage compost (89 %), and lower rates for sewage sudge compost (63 %) and dairy manure compost (42 %). Thomsen and Christensen (2010) observed higher retention for sheep faeces (30%) than for aboveground fresh maize biomass (19 %). In our case, compost-derived carbon has a composting step where a large part of the labile carbon may have been removed. Slurry did not have this composting stage, thus explaining why a large part of applied slurry-derived C might be directly mineralized. Moreover, as the

slurry applications are massive, there may be a toxic impact on microorganisms that could slow down OF decomposition. In our case, the extent of C retention differed by threefold when comparing the two OFs. The nature of the applied organic materials was therefore a major factor in the long-term (13 years) stabilization of carbon.

By focusing directly on the fate of OF-C in the soil, the synchronic isotope method thus may provide an opportunity to study the mechanisms of sequestration in the soil of C applied with organic fertilizers.

### 3.5. Conclusion

We compared three methods for quantifying carbon from organic fertilizers (OF-C) in an Arenosol and an Andosol trial under tropical climatic conditions, i.e. the differential method, the synchronic isotope method and the asynchronous isotope method. The differential method was the simplest to use since it did not require a specific  $\delta^{13}\text{C}$  system for OF-C calculation. However, the indirect effects (changes in vegetation and mineralization link to OFs input) cannot be subtracted from it. This effect had a major influence on the final compost-C quantifications in the Andosol trial, with  $17\pm 8\%$  found using the differential method compared to  $43\pm 3\%$  with the synchronic isotope method. The asynchronous method would be very useful when there are no control plots, but the control system without OF input must be isotopically stable through time, unlike the Arenosol control system here. Here,  $\delta^{13}\text{C}$  variations of controls plots were detected from the crop-C over time. The synchronic isotope method was therefore the most appropriate for subtracting crop-C from the OF-C. Yet there are other methodological variabilities to consider, such as, spatial  $\delta^{13}\text{C}$  variations, sampling variability in long-term studies and mostly OF- $\delta^{13}\text{C}$  variations over time. The application of the synchronous isotope method revealed potentialities to quantify the OF-C retention factors (e.g. soil type influence, OF nature as well as climate type). In our case study the compost-C retention rate in the Andosol was up to 36% whereas compost-C in the Arenosol reached only 23%, revealing the marked influence of climate and soil type. The slurry-C retention rate in the Arenosol was only about 8% compared to compost-C (up to 23%), revealing a OF nature influence, thus highlighting the importance of the OF nature on long-term C stabilization.

### 3.6. References

- Alexander, E.B., 1980. Bulk Densities of California Soils in Relation to Other Soil Properties  
1. Soil Sci. Soc. Am. J. 44, 689–692.  
<https://doi.org/10.2136/sssaj1980.03615995004400040005x>
- Amelung, W., Bol, R., Friedrich, C., 1999. Natural  $^{13}\text{C}$  abundance: a tool to trace the incorporation of dung-derived carbon into soil particle-size fractions. Rapid Commun. Mass Spectrom. 13, 1291–1294. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0231\(19990715\)13:13<1291::AID-RCM637>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0231(19990715)13:13<1291::AID-RCM637>3.0.CO;2-C)
- Angers, D.A., Giroux, M., 1996. Recently Deposited Organic Matter in Soil Water-Stable Aggregates. Soil Sci. Soc. Am. J. 60, 1547–1551.  
<https://doi.org/10.2136/sssaj1996.03615995006000050037x>

- Angers, D.A., Rochette, P., Chantigny, M.H., Lapierre, H., 2007. Use of  $^{13}\text{C}$  abundance to study short-term pig slurry decomposition in the field. *Soil Biol. Biochem.* 39, 1234–1237. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.12.028>
- Balesdent, J., 1998. Les isotopes du carbone et la dynamique des matières organiques des sols. *Cah. Agric.* 7, 201-206 (1).
- Balesdent, J., Basile-Doelsch, I., Chadoeuf, J., Cornu, S.S., Derrien, D., Fekiacova, Z., Hatté, C., 2018. Atmosphere–soil carbon transfer as a function of soil depth. *Nature* 559, 599–602. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0328-3>
- Balesdent, J., Mariotti, A., 1996. Measurement of Soil Organic Matter Turnover Using  $^{13}\text{C}$  Natural Abundance., in: *Mass Spectrometry of Soils*, Marcel Dekker Inc., New York. pp. 83–111.
- Balesdent, J., Mariotti, A., Guillet, B., 1987. Natural  $^{13}\text{C}$  abundance as a tracer for studies of soil organic matter dynamics. *Soil Biol. Biochem.* 19, 25–30. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(87\)90120-9](https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90120-9)
- Basile-Doelsch, I., Balesdent, J., Rose, J., 2015. Are Interactions between Organic Compounds and Nanoscale Weathering Minerals the Key Drivers of Carbon Storage in Soils? *Environ. Sci. Technol.* 49, 3997–3998. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b00650>
- Benner, R., Fogel, M.L., Sprague, E.K., Hodson, R.E., 1987. Depletion of  $^{13}\text{C}$  in lignin and its implications for stable carbon isotope studies. *Nature* 329, 708–710. <https://doi.org/10.1038/329708a0>
- Blumenthal, D.M., LeCain, D.R., Augustine, D.J., 2017. Composted manure application promotes long-term invasion of semi-arid rangeland by *Bromus tectorum*. *Ecosphere* 8, e01960. <https://doi.org/10.1002/ecs2.1960>
- Bol, R., Amelung, W., Friedrich, C., Ostle, N., 2000. Tracing dung-derived carbon in temperate grassland using  $^{13}\text{C}$  natural abundance measurements. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1337–1343. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00022-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00022-5)
- Bol, R., Poirier, N., Balesdent, J., Gleixner, G., 2009. Molecular turnover time of soil organic matter in particle-size fractions of an arable soil. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 23, 2551–2558. <https://doi.org/10.1002/rcm.4124>
- Boutton, T.W., Archer, S.R., Midwood, A.J., Zitzer, S.F., Bol, R., 1998.  $\delta^{13}\text{C}$  values of soil organic carbon and their use in documenting vegetation change in a subtropical savanna ecosystem. *Geoderma* 82, 5–41. [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(97\)00095-5](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(97)00095-5)
- Carpenter-Boggs, L.A., Carlson, B.R., Higgins, S.S., Stöckle, C.O., 2014. Decomposition of Dairy Manure Assessed in the Field by Monitoring Natural Abundance of  $^{13}\text{C}$ . *Soil Sci. Soc. Am. J.* 78, 1949–1952. <https://doi.org/10.2136/sssaj2014.02.0079n>
- Cayet, C., Lichtfouse, E., 2001.  $\delta^{13}\text{C}$  of plant-derived n-alkanes in soil particle-size fractions. *Org. Geochem.* 32, 253–258. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(00\)00172-8](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(00)00172-8)
- Coplen, T.B., Brand, W.A., Gehre, M., Gröning, M., Meijer, H.A.J., Toman, B., Verkouteren, R.M., 2006. After two decades a second anchor for the VPDB  $\delta^{13}\text{C}$  scale. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20, 3165–3166. <https://doi.org/10.1002/rcm.2727>
- De Deyn, G.B., Cornelissen, J.H.C., Bardgett, R.D., 2008. Plant functional traits and soil carbon sequestration in contrasting biomes. *Ecol. Lett.* 11, 516–531. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01164.x>
- Dignac, M.-F., Bahri, H., Rumpel, C., Rasse, D.P., Bardoux, G., Balesdent, J., Girardin, C., Chenu, C., Mariotti, A., 2005. Carbon-13 natural abundance as a tool to study the dynamics of lignin monomers in soil: an appraisal at the Closeaux experimental

- field (France). *Geoderma*, Mechanisms and regulation of organic matter stabilisation in soils 128, 3–17. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.12.022>
- Farquhar, G.D., Ehleringer, J.R., Hubick, K.T., 1989. Carbon Isotope Discrimination and Photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40, 503–537. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.40.060189.002443>
- Fontaine, S., Mariotti, A., Abbadie, L., 2003. The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biol. Biochem.* 35, 837–843. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00123-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00123-8)
- Gebauer, G., Preiss, K., Gebauer, A.C., 2016. Partial mycoheterotrophy is more widespread among orchids than previously assumed. *New Phytol.* 211, 11–15. <https://doi.org/10.1111/nph.13865>
- Gebauer, G., Schulumacher, M.I., Krstić, B., Rehder, H., Ziegler, H., 1987. Biomass production and nitrate metabolism of *Atriplex hortensis* L. (C3 plant) and *Amaranthus retroflexus* L. (C4 plant) in cultures at different levels of nitrogen supply. *Oecologia* 72, 303–314. <https://doi.org/10.1007/BF00379283>
- Gerzabek, M.H., Haberhauer, G., Kirchmann, H., 2001. Soil Organic Matter Pools and Carbon-13 Natural Abundances in Particle-Size Fractions of a Long-Term Agricultural Field Experiment Receiving Organic Amendments. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65, 352–358. <https://doi.org/10.2136/sssaj2001.652352x>
- Gerzabek, M.H., Pichlmayer, F., Kirchmann, H., Haberhauer, G., 1997. The response of soil organic matter to manure amendments in a long-term experiment at Ultuna, Sweden. *Eur. J. Soil Sci.* 48, 273–282. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1997.tb00547.x>
- Giesemann, P., Eichenberg, D., Stöckel, M., Seifert, L.F., Gomes, S.I.F., Merckx, V.S.F.T., Gebauer, G., 2020a. Dark septate endophytes and arbuscular mycorrhizal fungi (Paris-morphotype) affect the stable isotope composition of ‘classically’ non-mycorrhizal plants. *Funct. Ecol.* 34, 2453–2466. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13673>
- Giesemann, P., Rasmussen, H.N., Liebel, H.T., Gebauer, G., 2020b. Discreet heterotrophs: green plants that receive fungal carbon through Paris-type arbuscular mycorrhiza. *New Phytol.* 226, 960–966. <https://doi.org/10.1111/nph.16367>
- Glaser, B., 2005. Compound-specific stable-isotope ( $\delta^{13}\text{C}$ ) analysis in soil science. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 168, 633–648. <https://doi.org/10.1002/jpln.200521794>
- Glaser, B., Bol, R., Preedy, N., McTiernan, K.B., Clark, M., Amelung, W., 2001. Short-term sequestration of slurry-derived carbon and nitrogen in temperate grassland soil as assessed by  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  natural abundance measurements. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 164, 467–474. [https://doi.org/10.1002/1522-2624\(200110\)164:5<467::AID-JPLN467>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/1522-2624(200110)164:5<467::AID-JPLN467>3.0.CO;2-Q)
- Jastrow, J.D., Miller, R.M., Boutton, T.W., 1996. Carbon Dynamics of Aggregate-Associated Organic Matter Estimated by Carbon-13 Natural Abundance. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 60, 801–807. <https://doi.org/10.2136/sssaj1996.03615995006000030017x>
- Kristiansen, S.M., Hansen, E.M., Jensen, L.S., Christensen, B.T., 2005. Natural  $^{13}\text{C}$  abundance and carbon storage in Danish soils under continuous silage maize. *Eur. J. Agron.* 22, 107–117. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2004.01.002>
- Kuzyakov, Y., Friedel, J.K., Stahr, K., 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1485–1498. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00084-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00084-5)
- Levard, C., Doelsch, E., Basile-Doelsch, I., Abidin, Z., Miche, H., Masion, A., Rose, J., Borschneck, D., Bottero, J.-Y., 2012. Structure and distribution of allophanes,

- imogolite and proto-imogolite in volcanic soils. *Geoderma* 183–184, 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2012.03.015>
- Liang, F., Li, J., Zhang, S., Gao, H., Wang, B., Shi, X., Huang, S., Xu, M., 2019. Two-decade long fertilization induced changes in subsurface soil organic carbon stock vary with indigenous site characteristics. *Geoderma* 337, 853–862. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.10.033>
- Liao, J.D., Boutton, T.W., Jastrow, J.D., 2006. Organic matter turnover in soil physical fractions following woody plant invasion of grassland: Evidence from natural <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N. *Soil Biol. Biochem., Ecosystems in Flux: Molecular and stable isotope Assessments of Soil Organic Matter Storage and Dynamics* 38, 3197–3210. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.04.004>
- Liu, H., Zhang, J., Ai, Z., Wu, Y., Xu, H., Li, Q., Xue, S., Liu, G., 2018. 16-Year fertilization changes the dynamics of soil oxidizable organic carbon fractions and the stability of soil organic carbon in soybean-corn agroecosystem. *Agric. Ecosyst. Environ.* 265, 320–330. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.06.032>
- Liu, W., Zhu, Y.-G., Christie, P., Laidlaw, A.S., 2009. Botanical composition, production and nutrient status of an originally *Lolium perenne*-dominant cut grass sward receiving long-term manure applications. *Plant Soil* 326, 355. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0016-z>
- Lou, Y., Wang, J., Liang, W., 2011. Impacts of 22-year organic and inorganic N managements on soil organic C fractions in a maize field, northeast China. *CATENA* 87, 386–390. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2011.07.006>
- Lynch, D.H., Voroney, R.P., Warman, P.R., 2006. Use of <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N natural abundance techniques to characterize carbon and nitrogen dynamics in composting and in compost-amended soils. *Soil Biol. Biochem.* 38, 103–114. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.04.022>
- Mathieu, J.A., Hatté, C., Balesdent, J., Parent, E., 2015. Deep soil carbon dynamics are driven more by soil type than by climate: a worldwide meta-analysis of radiocarbon profiles - Mathieu - 2015 - *Global Change Biology* - Wiley Online Library. *Glob. Change Biol.* 21, 4278–4292.
- Nicoloso, R.S., Rice, C.W., Amado, T.J.C., Costa, C.N., Akley, E.K., 2018. Carbon saturation and translocation in a no-till soil under organic amendments. *Agric. Ecosyst. Environ.* 264, 73–84. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.05.016>
- O’Leary, M.H., 1988. Carbon Isotopes in Photosynthesis. *BioScience* 38, 328–336. <https://doi.org/10.2307/1310735>
- Paetsch, L., Mueller, C.W., Rumpel, C., Houot, S., Kögel-Knabner, I., 2016. Urban waste composts enhance OC and N stocks after long-term amendment but do not alter organic matter composition. *Agric. Ecosyst. Environ.* 223, 211–222. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.03.008>
- Rasse, D.P., Dignac, M.-F., Bahri, H., Rumpel, C., Mariotti, A., Chenu, C., 2006. Lignin turnover in an agricultural field: from plant residues to soil-protected fractions. *Eur. J. Soil Sci.* 57, 530–538. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2006.00806.x>
- Rochette, P., Angers, D.A., Côté, D., 2000. Soil Carbon and Nitrogen Dynamics Following Application of Pig Slurry for the 19th Consecutive Year I. Carbon Dioxide Fluxes and Microbial Biomass Carbon. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 1389–1395. <https://doi.org/10.2136/sssaj2000.6441389x>
- Soussana, J.-F., Lutfalla, S., Ehrhardt, F., Rosenstock, T., Lamanna, C., Havlík, P., Richards, M., Wollenberg, E. (Lini), Chotte, J.-L., Torquebiau, E., Ciais, P., Smith, P., Lal, R., 2019. Matching policy and science: Rationale for the ‘4 per 1000 - soils for food

- security and climate' initiative. *Soil Tillage Res., Soil Carbon and Climate Change: the 4 per Mille Initiative* 188, 3–15. <https://doi.org/10.1016/j.still.2017.12.002>
- Steinbeiss, S., BEßLER, H., Engels, C., Temperton, V.M., Buchmann, N., Roscher, C., Kreuziger, Y., Baade, J., Habekost, M., Gleixner, G., 2018. Plant diversity positively affects short-term soil carbon storage in experimental grasslands. *Glob. Change Biol.* 14, 2937–2949.
- Thomsen, I.K., Christensen, B.T., 2010. Carbon sequestration in soils with annual inputs of maize biomass and maize-derived animal manure: Evidence from <sup>13</sup>C abundance. *Soil Biol. Biochem.* 42, 1643–1646. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.05.017>
- Trumbore, S.E., 1993. Comparison of carbon dynamics in tropical and temperate soils using radiocarbon measurements. *Glob. Biogeochem. Cycles* 7, 275–290. <https://doi.org/10.1029/93GB00468>
- USS Working Group WRB, 2015. World Reference Base for Soil Resources 2014, update 2015. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resour. Rep.

### 3.7. Acknowledgements

We thank Mathias Christina, Marion Collinet, Matthieu Bravin and Adrien Duvivier for their assistance provided throughout this study. The authors thank *Expédit Rivière, Sicalait* and the *Lycée Agricole of Saint-Joseph* for financing, maintenance and sampling of trials. We thank the *Conseil regional de La Réunion*, the French Ministry of Agriculture and Food, the European Union (FEDER program, grant n°GURTDI 20151501-0000735), CIRAD for funding A. Versini (CIRAD) within the framework of the *Services et impacts des activités agricoles en milieu tropical* project (SIAAM) and the ANR NanoSoilC - 16-CE01-0012-01 Project.

### 3.8. Supplementary information

Table S1. Percentage of OF-C according to the methods, i.e. differential, synchronic isotope and asynchronous isotope. Mean of three OF-C estimations  $\pm$  standard deviation (only two blocks in year 3 for the Arenosol and year 10 for the Andosol).

	Arenosol, compost			Arenosol, slurry			Andosol, compost		
	Difference	Synchronic	Asynchronic	Difference	Synchronic	Diachronic	Difference	Synchronic	Asynchronic
T1	-	-	-	-	-	-	3 $\pm$ 3	24 $\pm$ 6	22 $\pm$ 10
T2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T3	11 $\pm$ 13	26 $\pm$ 12	15 $\pm$ 11	18 $\pm$ 12	-	-	14 $\pm$ 4	-	-
T4	26 $\pm$ 15	44 $\pm$ 3	32 $\pm$ 8	22 $\pm$ 5	31 $\pm$ 2	26 $\pm$ 1	15 $\pm$ 3	14 $\pm$ 3	11 $\pm$ 4
T5	5 $\pm$ 4	-	-	23 $\pm$ 3	32 $\pm$ 2	26 $\pm$ 4	1 $\pm$ 2	-	-
T6	12 $\pm$ 6	-	-	31 $\pm$ 12	26 $\pm$ 3	20 $\pm$ 4	10 $\pm$ 8	22 $\pm$ 5	21 $\pm$ 3
T7	0 $\pm$ 1	-	-	16 $\pm$ 14	-	-	20 $\pm$ 6	20 $\pm$ 0	20 $\pm$ 1
T8	15 $\pm$ 13	-	-	23 $\pm$ 14	31 $\pm$ 3	22 $\pm$ 4	14 $\pm$ 6	31 $\pm$ 3	25 $\pm$ 5
T9	2 $\pm$ 4	41 $\pm$ 6	15 $\pm$ 13	18 $\pm$ 17	40 $\pm$ 5	28 $\pm$ 5	18 $\pm$ 6	33 $\pm$ 7	30 $\pm$ 3
T10	41 $\pm$ 10	42 $\pm$ 14	16 $\pm$ 26	35 $\pm$ 4	42 $\pm$ 5	31 $\pm$ 7	24 $\pm$ 4	37 $\pm$ 1	33 $\pm$ 2
T11	40 $\pm$ 12	42 $\pm$ 7	15 $\pm$ 17	35 $\pm$ 5	39 $\pm$ 2	27 $\pm$ 3	19 $\pm$ 4	36 $\pm$ 3	32 $\pm$ 3
T12	47 $\pm$ 3	49 $\pm$ 9	24 $\pm$ 22	35 $\pm$ 2	36 $\pm$ 5	23 $\pm$ 7	19 $\pm$ 4	31 $\pm$ 1	27 $\pm$ 1
T13	53 $\pm$ 7	56 $\pm$ 12	31 $\pm$ 30	39 $\pm$ 6	40 $\pm$ 3	28 $\pm$ 3	17 $\pm$ 8	43 $\pm$ 3	36 $\pm$ 5

Table S2. Weight of each parameter in the sensitivity analysis of the isotope mixing equation. Average  $\delta^{13}\text{C}$  is the average  $\delta^{13}\text{C}$  from three plots at T13. The variation is the standard deviation divided by the average. Importance variable method detailed in part 2.2.8.

	Equation variable	Average $\delta^{13}\text{C}$	Variation [%]	Weight of the variable [%]
Arenosol compost	$\delta^{13}\text{C}_{\text{OF}}$	-20.33	14	95
	$\delta^{13}\text{C}_{\text{OFsoil}}$	-18.45	2	5
	$\delta^{13}\text{C}_{\text{CTRLsoil}}$	-16.02	3	1
Arenosol slurry	$\delta^{13}\text{C}_{\text{OF}}$	-24.35	6	58
	$\delta^{13}\text{C}_{\text{OFsoil}}$	-19.37	2	26
	$\delta^{13}\text{C}_{\text{CTRLsoil}}$	-16.02	3	16
Andosol compost	$\delta^{13}\text{C}_{\text{OF}}$	-20.33	14	92
	$\delta^{13}\text{C}_{\text{OFsoil}}$	-22.75	1	6
	$\delta^{13}\text{C}_{\text{CTRLsoil}}$	-24.58	2	2

Figure S1. Schematic representation of the experimental design of Arenosol and Andosol trials. Consisting of nine plots divided into three blocks with three different treatments, leading to three plots per modality. The plots were randomly distributed within each block.

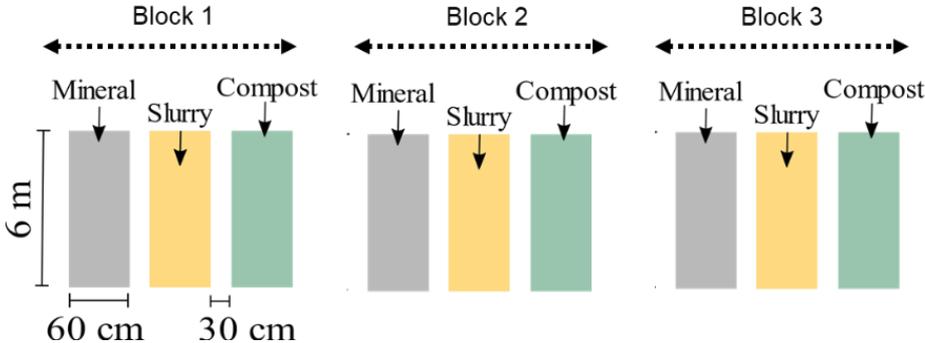
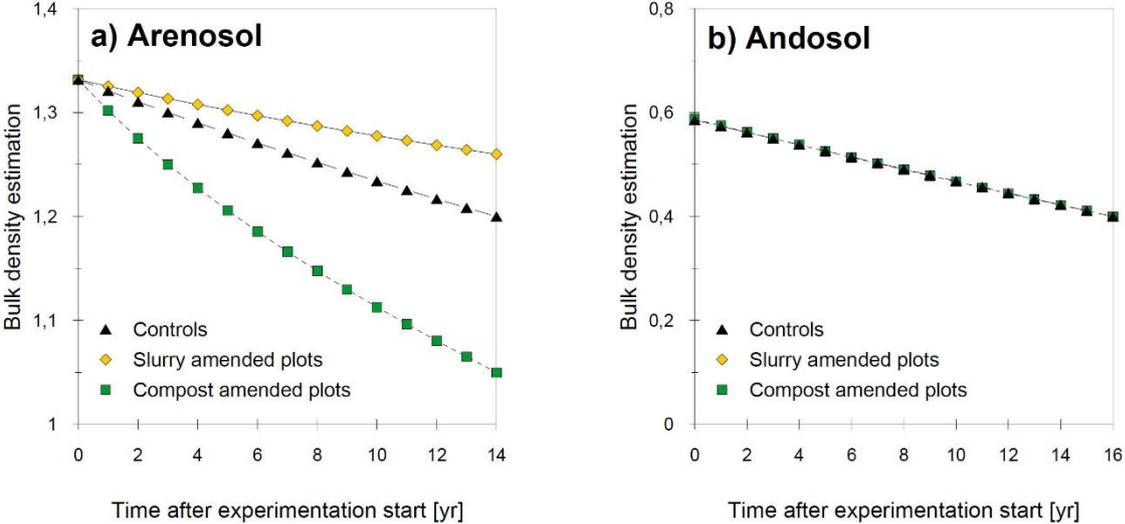
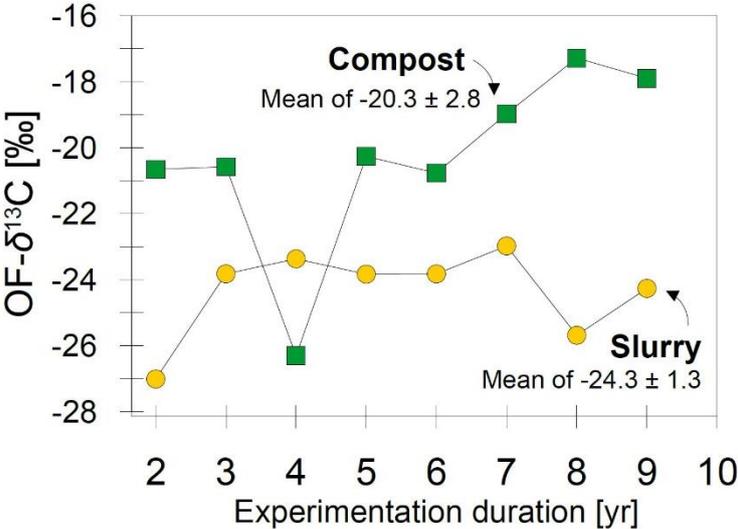


Figure S2. Bulk density estimations (results and parameters) using Alexander’s law on total carbon content. Note that a linear regressions on the total carbon from Figure 4 data was done to fit Alexander’s law by the least squared method with measurements performed on the Arenosol (5-10 cm) in year 0 an year 14 and on the Andosol (0-10 cm) in year 3 and 16. Alexander coefficients underwent least squares adjustment on carbon linear regression data, by fitting both measured values in each soils.



	Arenosol			Andosol	
	Controls	Compost amended soils	Slurry amended soils	Controls	Compost amended soils
Alexander's coefficient ( $A_{coef}$ )	1.74	1.58	1.46	3.61	1.71
Slope ( $A_{slope}$ )	0.13	0.09	0.04	0.30	0.11

Figure S3. OF- $\delta^{13}\text{C}$  over time from years 2 to 9 for the bovine manure compost (green square) and bovine slurry (yellow dot) treatments.



### 3B. Quantification de C issu de fertilisants organiques et impact sur les matières organiques endogènes du sol



Les personnes impliquées ainsi que leurs contributions respectives à ce sous-chapitre de thèse sont listées ci-dessous. **Floriane Jamoteau** a participé à la conceptualisation de l'expérience, préparé les échantillons (fractionnement), effectué les analyses de C, de minéralogie par DRX, analysé les données et rédigé ce chapitre de thèse. **Baptiste Hulin** a participé à la préparation des échantillons (broyage, mesures de pH, dosages de C, préparations DRX) ainsi que à l'analyse des résultats durant son stage de Master 2. **Antoine Versini** a participé à la conceptualisation de l'expérience, échantillonné et préparé les sols (tamisage à 2 mm ; séchage à l'air), analysé les données et participé à la rédaction de ce chapitre de thèse. **Isabelle Basile-Doelsch** a participé à la conceptualisation de l'expérience, réalisé les demandes de financement et à l'analyse des données. **Christine Hatté** a participé à la conceptualisation de l'expérience, réalisé les analyses isotopiques du  $^{13}\text{C}$  et  $^{14}\text{C}$ , à l'analyse des résultats et à la rédaction de ce chapitre de thèse. **Didier Baret** et **Jules Philippe Nirlo** ont participé à l'échantillonnage et la préparation des sols. **Daniel Borschneck** a analysé la minéralogie des échantillons. **Claire Chevassus-Rosset**, **Mélanie Montes** et **Loïs Lachowicz** ont réalisé les analyses de C en phase liquide. **Emmanuel Tillard** a dirigé les essais agronomiques durant 15 à 16 ans et a effectué une partie de l'échantillonnage.

En plus du financement de cette thèse par le **CIRAD** et la **région SUD**, ces résultats ont été financé par un appel à projet **MITI Cycle du carbone dans les écosystèmes terrestres** (action conjointe 2021-2022) sous le nom de **AddSOC-dt** porté par Isabelle Basile-Doelsch. Les analyses isotopiques du  $^{14}\text{C}$  prévues dans le cadre de ce projet sont partiellement acquises. Le sous-chapitre B reprend donc les résultats obtenus à ce jour avec l'approche  $^{13}\text{C}$  développée dans le sous-chapitre 3A.

### 3.9. Introduction

Certaines pratiques agricoles ou systèmes de culture permettent de restocker du C dans les sols (semi-direct sous couvert végétal, cultures associés ou en rotation, prairies temporaires et permanentes, agroforesterie, apport de fertilisants organiques, etc. ; Dignac et al., 2017). L'apport de fertilisants organiques (OF) aux sols peut permettre de restocker du C, mais aussi d'optimiser le recyclage des nutriments contenus dans les effluents d'élevages (Dignac et al., 2017). Les études visant à quantifier le C issu des fertilisants organiques (OF-C) sont nombreuses et la quantité de OF-C stocké est variable en fonction du type de sol, du climat, des quantités et du type de fertilisant organique apporté (Lou et al., 2011; Liang et al., 2012; Mi et al., 2016; Li and Han, 2016; Li et al., 2018; Tang et al., 2020; Du et al., 2020). Cependant, la plupart de ces études quantifient la contribution du OF-C par une différence de stock et jusqu'à 30 cm de profondeur (Lou et al., 2011; Mi et al., 2016; Li and Han, 2016; Li et al., 2018; Tang et al., 2020). Malgré quelques études quantifiant du OF-C dans les horizons inférieurs à 30 cm (Fan et al., 2014; Zieger et al., 2018), les horizons profonds sont rarement pris en compte dans les bilans de stabilisation du OF-C. Bien que plus lent qu'en surface, le renouvellement du C profond n'est pas négligeable à l'échelle d'une dizaine d'années (pour les sols cultivés, Balesdent et al., 2017, 2018). La quantification du OF-C en profondeur pourrait ainsi compléter les estimations existantes. Aussi, ces études faites par différences de stock de C entre des parcelles amendées et non amendées ne peuvent rendre compte de potentiels remplacements du C natif du sol par du OF-C. Ainsi, malgré le grand nombre d'études quantifiant le OF-C, deux inconnus subsistent (i) l'éventuelle stabilisation de OF-C dans les horizons profonds et (ii) l'impact d'apports d'OF sur la minéralisation des MO initiales des sols.

La majorité des études ayant fractionné des sols amendés avec des OF ont une augmentation de C dans les fractions grossières, attribuable aux POM (Leroy et al., 2008; Sleutel et al., 2006; Nicolás et al., 2017; Huang et al., 2019). Quelques publications détectent aussi une augmentation de C dans les fractions fines, attribuable aux MAOM (Wu et al., 2005; Xu et al., 2020). Ces estimations, faites par différence de teneur ou de stock de C dans chaque fraction ne sont pas en mesure d'indiquer la provenance du C additionnel. Ainsi, même si aucune différence de stock ou de concentration de C n'est analysée entre une fraction de sols amendée et non amendées, du OF-C peut être présent. Le temps de renouvellement des catégories POM et MAOM, peut être approché par un âge moyen des fractions de sols. Les fractions POM ont un âge moyen assez court de l'ordre de quelques années à la centaine d'années (Trumbore et al., 1989; Bol et al., 2009; Feng et al., 2016). Alors que l'âge moyen des fractions MAOM est variable de la dizaine d'années à plusieurs centaines ou jusqu'au millier d'années (Balesdent et al., 1996; Trumbore et al., 1989; Bol et al., 2009; Feng et al., 2016; Shimada et al., 2022). Lorsqu'on étudie des pratiques d'apports d'OF durant une quinzaine d'année (durée mimant une pratique restockante de C), les POM sont ainsi susceptibles d'être renouvelées plus rapidement que les MAOMs. En parallèle, l'apport d'OF peut remplacer du C antérieur aux apports (initial-C) sous forme de MAOM ou POM par du OF-C. Cet effet peut être induit via un "*priming effect*" biotique (stimulation enzymatique microbienne) ou abiotique (par changement

des conditions du sol, Eh/pH) (Kuzyakov et al., 2000; Fontaine et al., 2003; Bernard et al., 2022). Dans ce cas, la quantification de C par une différence de stock n'est pas en mesure de rendre compte des processus de renouvellement et/ou remplacement du C du sol.

Dans un contexte où le OF a une signature de  $^{13}\text{C}$  différente du initial-C et du C issu de la végétation (végétation-C), une quantification du OF-C est possible (sous-chapitre 3B ; Balesdent et al., 1987). Le traçage isotopique du OF-C est aussi quantifiable dans les fractions de sol (Amelung et al., 1999; Kristiansen et al., 2005; Lynch et al., 2006). Après des apports de 70 jours à 1 ans, ces études ont observé que la majorité du OF-C se trouvait sous la forme de POM (Amelung et al., 1999; Kristiansen et al., 2005; Lynch et al., 2006). Mais après 15 ans d'apports de biomasse aérienne de maïs, Kristiansen et al., (2005) ont observé une accumulation de C dérivé du maïs via la méthode  $^{13}\text{C}$  supérieure à l'augmentation de C du sol. Ainsi, de potentiels remplacement ou renouvellement du C semblent quantifiables via le traçage isotopique  $^{13}\text{C}$ . Un autre outil permettant de quantifier le renouvellement du C du sol est la datation par l'isotope radioactif  $^{14}\text{C}$  (Balesdent and Guillet, 1982; Trumbore, 1993, 2009; Mathieu et al., 2015). Cette datation du C sur sol fractionné apporte une dynamique temporelle (Heckman et al., 2018a, 2018b; Quero et al., 2022). La mesure du C récent dans un contexte d'apport d'OF, permettrait de mesurer cette dynamique de renouvellement, et par comparaison avec des parcelles sans apport, de mesurer de potentiels impacts sur le C plus ancien. Aussi, une approche par des équations combinées des diverses méthodes ( $^{14}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$  et différentielle) permettrait de mettre en évidence les effets de renouvellement et de remplacement par le OF-C (Ndour et al., 2022).

L'objectif général de cette étude est de quantifier l'apport de OF-C dans les fractions de sols et de mettre en évidence/quantifier l'impact d'apports de OF sur les MO initiales et issues de la végétation. Cette étude ambitionne de quantifier ces effets sur l'ensemble du profil de sols et après une quinzaine d'années d'apports, afin de mimer une pratique 'restockante' de C. Plus spécifiquement les objectifs sont (1) de déterminer des transferts depuis la surface vers les horizons profonds des MO apportées (2) de déterminer, à l'échelle des fractions POM et MAOM, si les MO apportées ont effectivement, au champ, des effets de renouvellement et/ou remplacement sur les MO initiales. Pour cela, nous proposons de quantifier les gains et pertes de chaque type de MO en utilisant les différences de signatures isotopiques naturelles ( $^{13}\text{C}$  et  $^{14}\text{C}$ ) entre les MO initiales, de la végétation et les OF apportés.

## 3.10. Matériels et Méthodes

### 3.10.1. Description des essais

La description des essais peut être consultée en partie 3.2.1 de ce manuscrit. L'Arénosol a été échantillonné le 21/01/2019 et l'Andosol le 25/02/2021. Les fertilisants organiques ont été apportés aux sols à partir de 2004 (T0) jusqu'à la fin de l'année 2018 pour l'Arénosol (T15) et 2019 pour l'Andosol (T16). Les apports de fertilisants organiques ont été fait environ 7 fois par an. Le compost a été mûré pendant les 2 mois précédant l'épandage, et le lisier a été récupéré chez un même éleveur avant l'épandage. La quantité totale de C apportée sur l'Arénosol (durant 15 ans d'apports) est de 13 kgC.m<sup>-2</sup> pour les apports de compost et 30 kgC.m<sup>-2</sup> pour les apports de lisier. La quantité totale de C apportée sur l'Andosol (durant 16 ans d'apports) est de 14 kgC.m<sup>-2</sup> pour les apports de compost et 32 kgC.m<sup>-2</sup> pour les apports de lisier.

### 3.10.2. Échantillonnage des sols et des fertilisants organiques

L'échantillonnage a été réalisé à l'aide d'une tarière sur 4 horizons : 0-10, 10-20, 20-50, 50-100 cm. Chaque échantillon est le composite de 5 prélèvements dans chaque parcelle élémentaire. Les horizons 0-10 cm et 10-20 cm sont échantillonnés pour les trois parcelles de répétitions agronomiques (aussi appelées blocs). Les horizons 20-50 cm et 50-100 cm sont échantillonnés sur les trois blocs avant d'être mélangés en composites. Tous les échantillons sont tamisés à 4 mm, une partie est séchée à l'air et une autre partie est conservée à 4°C.

Des fertilisants organiques ont été échantillonnés durant l'essai, soit 18 échantillons de compost entre 2005 et 2018 et 33 échantillons de lisier entre 2008 et 2018.

### 3.10.3. Fractionnement des sols et des fertilisants organiques

Les sols et les fertilisants organiques ont été séparés par tamisage humide en utilisant des tamis de 50 et 20 µm. Brièvement, 10-20 g de sol ou 1-2 g de fertilisant organique ont été ajoutés à 200 mL d'eau milliQ et sonifiés (à 70% de la puissance maximale, pulsation de 5 secondes d'ultrasons et 5 secondes sans ultrasons pendant 1 min pour un total de 1600 joules ; soit 8 J.mL<sup>-1</sup>). Les 200 mL ont ensuite été tamisés par voie humide à l'aide de tamis successifs de 50 et 20 µm. Les fractions >50 µm et 50-20 µm ont été séchés à 30 °C. La fraction <20 µm a été décantée pendant 12 h minimum au réfrigérateur pour éliminer le surnageant (~500 mL) avant d'être séchée à 30 °C. Un sous-échantillon du surnageant a été conservé à 4°C pour l'analyse de C organique total en liquide.

### 3.10.4. Analyses physico-chimiques du sol *bulk*

Le pH du sol (sur le sol séché à l'air) est réalisé à un ratio massique de 1:5 dans de l'eau milliQ (prise d'essai de 25g).

Les extractions ci-dessous ont été effectuées par le laboratoire d'analyses d'Arras. Les extractions de Fe, Si et Al sont réalisées avec de l'acide oxalique - oxalate d'ammonium (AOD; Tamm, (1922) dans l'obscurité), du dithionite-citrate (DCB, Mehra and Jackson, 1958) et de pyrophosphate (Pyr, Pansu and Gautheyrou, 2006). La teneur totale en Fe est réalisée avec une attaque par acide hydrofluorique. La teneur totale en Al et Si par fusion est réalisée avec du peroxyde de sodium. Le Fe, l'Al et le Si en solution sont mesurés par spectroscopie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES).

Les extractions élémentaires (*Emineral*) sont exprimées en g.100g<sup>-1</sup> minéral suivant l'équation (1):

$$E_{\text{mineral}} = \frac{E \times 100}{100 - OM/10} \quad (1)$$

Avec  $E$  la concentration de l'élément en g.100g<sup>-1</sup> et  $OM$  la teneur en matière organique en g.kg<sup>-1</sup> avec  $OM = 1,73 \times C$ ,  $C$  représente la teneur en carbone en g.kg<sup>-1</sup>.

### 3.10.5. Analyses minéralogiques

La minéralogie des sols *bulk* est analysée sur les échantillons séchés à 30°C pour toutes les profondeurs par diffraction des rayons X à l'aide du diffractomètre à rayons X Philips, source Co-K $\alpha$  à 40 mA;  $\lambda = 1.79 \text{ \AA}$ . Les diffractogrammes sont acquis (analyse de poudre) de 2-3 à 75° avec un pas de 0,033° et pour un temps d'analyse de 1000s par pas. Pour les horizons 0-10 cm et 10-20 cm, seul le bloc de répétition agronomique n°1 est analysé.

La minéralogie des fractions des sols (>50  $\mu\text{m}$  ; 50-20  $\mu\text{m}$  et <20 $\mu\text{m}$ ) est analysée uniquement sur l'horizon 10-20 cm (bloc 1). Les fractions de sols sont analysées selon les mêmes paramètres, mais avec un faisceau direct réduit (fente de 4 mm), afin d'augmenter la détection des phases amorphes ou peu cristallines aux bas angles.

### 3.10.6. Analyses de C et <sup>13</sup>C des sols et des fertilisants organiques

La teneur totale en C des sols *bulk* et des fractions de sol est mesurée sur des sols et fractions séchés à 30°C. Une correction de l'humidité à 105°C est effectuée après les mesures. Les analyses de C sont effectuées par combustion sèche (analyseur FlashSmart, NF ISO 10694), chaque échantillon est répété 3 fois.

Les surnageants liquides issus du fractionnement (surnageants des fractions <20  $\mu\text{m}$ ) sont analysés en C total par un TOC-L CSH Shiamadzu (3 répétitions analytiques).

Les analyses de <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C sont faites en flux continu (EA-IRMS, un FlashEA1112 Elemental Analyzer couplé à un Thermo Finnigan Delta + XP Isotope-Ratio Mass Spectrometer). Quatre standards ont été analysés tous les 5 échantillons (Hobo5 :  $\delta^{13}\text{C} = -9.21 \text{ ‰}$ , oxalic acid:  $\delta^{13}\text{C} = -17.68 \text{ ‰}$  ; and GCL :  $\delta^{13}\text{C} = -26.7 \text{ ‰}$  et IAEA-CH7:  $\delta^{13}\text{C} = -32.151 \text{ ‰}$ ). La signature isotopique  $\delta^{13}\text{C}$  est calculée suivant l'équation (2) avec V-PDB comme référence. Les sols et les fractions de sols sont analysés à partir d'une masse de de 0.4 à 29.3 mg pour l'Arénosol, de 0.2 à 3.4 mg pour l'Andosol et de à 0.02 à 0.06 mg pour les OFs. Les incertitudes de mesures sont de 0.1 à 0.2 ‰.

$$\delta^{13}C(\text{‰}) = \left( \frac{\left( \frac{^{13}C}{^{12}C} \right)_{sample}}{\left( \frac{^{13}C}{^{12}C} \right)_{reference}} - 1 \right) \quad (2)$$

### 3.10.7. Calcul de proportion du C dérivé des fertilisants organiques (OF-C) et propagation des erreurs

La variabilité agronomique est mesurée pour les horizons 0-10 et 10-20 cm par l'analyse des 3 blocs de répétitions agronomiques. Pour les horizons 20-50 et 50-100 cm un composite est analysé, l'erreur agronomique des échantillons de surface est donc projetée sur les échantillons de profondeur. Pour les concentrations en C, le pourcentage de l'écart-type maximal entre les horizons 0-10 et 10-20 cm est projeté sur les horizons 20-50 et 50-100 cm. Pour la signature isotopique, l'écart-type maximal du  $\delta^{13}C$  entre les horizons 0-10 et 10-20 cm est projeté sur les horizons 20-50 et 50-100 cm.

#### 3.10.7.1. Calcul de la proportion OF-C par la méthode soustractive

Lorsque la quantité de C dans une fraction de sol amendé est significativement différente de la fraction du sol contrôle (t-test de Student fait avec le logiciel R, package BSDA), la proportion de C dérivé des fertilisants organiques par méthode soustractive ( $f_{OF}Diff$ ) est calculée suivant l'équation (3) :

$$f_{OF}Diff = \frac{C_{OFsoil} - C_{CTLsoil}}{C_{OFsoil}} \quad (3)$$

Avec  $C_{OFsoil}$  pour la quantité de C de la fraction du sol amendé en gC.kg<sup>-1</sup> de sol, et  $C_{CTLsoil}$  la quantité de C du sol contrôle gC.kg<sup>-1</sup> de sol.

#### 3.10.7.2. Calcul de la proportion OF-C par la méthode isotopique

Lorsque le  $\delta^{13}C$  des sols ou des fractions de sol amendés est significativement différent des sols ou fractions de sol contrôle (t-test de student fait avec le logiciel R, package BSDA), le calcul de la proportion de C dérivé des fertilisants organiques ( $f_{OF}$ ) est calculé suivant l'équation (4) :

$$f_{OF} = \frac{\delta^{13}C_{OFsoil} - \delta^{13}C_{CTLsoil}}{\delta^{13}C_{OF} - \delta^{13}C_{CTLsoil}} \quad (4)$$

Avec  $\delta^{13}C_{OFsoil}$  pour la signature isotopique du sol ou fraction de sol amendé en ‰,  $\delta^{13}C_{CTLsoil}$  pour la signature isotopique du sol ou de fraction de sol contrôle et  $\delta^{13}C_{OF}$  pour la signature isotopique moyenne des fertilisants organiques (estimation du  $\delta^{13}C_{OF}$  détaillée en partie 3.11.1).

Afin de propager les erreurs de  $\delta^{13}C_{OFsoil}$ ,  $\delta^{13}C_{CTLsoil}$  et  $\delta^{13}C_{CTLsoil}$  dans l'estimation de  $f_{OF}$ , l'équation de Balesdent and Mariotti, (1996)<sup>5</sup> est utilisée pour estimer la variation de  $f_{OF}$ , appelée  $\sigma_{f_{OF}}$ , (5) :

$$\sigma_{f_{OF}} = \sqrt{\frac{1}{(\delta^{13}C_{CTLsoil} - \delta^{13}C_{OF})^2} \times \left[ (\sigma_{\delta^{13}C_{OFsoil}})^2 + f_{OF}^2 (\sigma_{\delta^{13}C_{CTLsoil}})^2 + (1 - f_{OF})^2 (\sigma_{\delta^{13}C_{OF}})^2 \right]} \quad (5)$$

Avec,  $\sigma_{\delta^{13}C_{OFsoil}}$ ,  $\sigma_{\delta^{13}C_{CTLsoil}}$ ,  $\sigma_{\delta^{13}C_{OF}}$ , l'écart-type de la variabilité agronomique de  $\delta^{13}C_{OFsoil}$  et  $\delta^{13}C_{CTLsoil}$  et l'écart-type  $\delta^{13}C_{OF}$  estimé en partie 3.11.1. Dans cette propagation d'erreur, l'erreur analytique de mesure isotopique est négligée.

### 3.10.7.3. Calcul de la quantité et du taux de recouvrement du OF-C

Pour la méthode isotopique et soustractive, la quantité de C dérivé des OF (OF-C) en gC.kg<sup>-1</sup> a été déduite de la concentration de C (C) du sol *bulk* ou de la fraction de sol en gC.kg<sup>-1</sup> suivant la formule OF-C = ( $f_{OF}$  ou  $f_{OF}Diff$ ) × C.

Les calculs de OF-C ( $OF\_C_{total}$ ) du sol total exprimé en gOF-C sont issus de la somme de OF-C de toutes les fractions (via la méthode isotopique), équation (6). Les calculs sont faits à partir des fractions car la significativité du traçage isotopique est plus forte sur les sols fractionnés que le sol *bulk* (voir discussion 3.12.1).

$$OF\_C_{total} = C_{fraction > 50 \mu m} \times f_{OF > 50 \mu m} + C_{fraction 20-50 \mu m} \times f_{OF 20-50 \mu m} + C_{fraction < 20 \mu m} \times f_{OF < 20 \mu m} \quad (6)$$

Avec  $C_{fraction > 50 \mu m}$ ,  $C_{fraction 20-50 \mu m}$  et  $C_{fraction < 20 \mu m}$  exprimé en gC.kg de sol<sup>-1</sup>.

Le  $OF\_C_{total}$  a ensuite été exprimé en gOF-C.100g<sup>-1</sup> de C total suivant l'équation :  $OF\_C_{total} = (100 * (OF\_C_{total})) / C_{total}$ . Avec  $C_{total}$ , la quantité de C issu de la somme de C des fractions en gC.kg<sup>-1</sup> de sol.

Le stock de C dérivé des OF ( $OF\_C_{stock}$ ) en kgC.m<sup>-2</sup> des sols est calculé à partir de quantité de  $OF\_C_{total}$  (7)

$$OF\_C_{stock} = OF\_C_{total} \times C \times e \times \rho \times 10 \quad (7)$$

Avec C la concentration en C du sol *bulk* en gC.kg<sup>-1</sup>, e pour l'épaisseur de l'horizon en cm et  $\rho$  pour la densité apparente en g.cm<sup>-3</sup>. La densité des sols est estimée comme dans Jamoteau et al. (2021) : brièvement, la loi d'Alexander, (1980) est utilisée pour calculer la densité à partir de la concentration en C et de valeurs mesurées en année 0 et 14 sur le 5-10 cm de l'Arénosol et en année 3 et 16 sur le 0-10 cm de l'Andosol.

<sup>5</sup> Deux propagations des erreurs ont été testés : (i) la méthode de Balesdent and Mariotti, 1996 et (ii) et la méthode de Monté Carlo. Les erreurs étaient plus faibles pour la méthode de Monté Carlo que la méthode de Balesdent and Mariotti, (1996). Pour ne pas sous-estimer les erreurs, la méthode de Balesdent and Mariotti, 1996 a été choisie pour ce chapitre de thèse.

Le pourcentage de rétention des OF ( $\%OF\_C$  retained) est calculé suivant l'équation (8), avec  $OF$  total applied pour la quantité de C épandu par l'apport des OF durant 15 ans de fertilisation continue en  $kgC.m^{-2}$ .

$$\%OF\_C \text{ retained} = \frac{OF - C_{stock}}{OF \text{ total applied}} \quad (8)$$

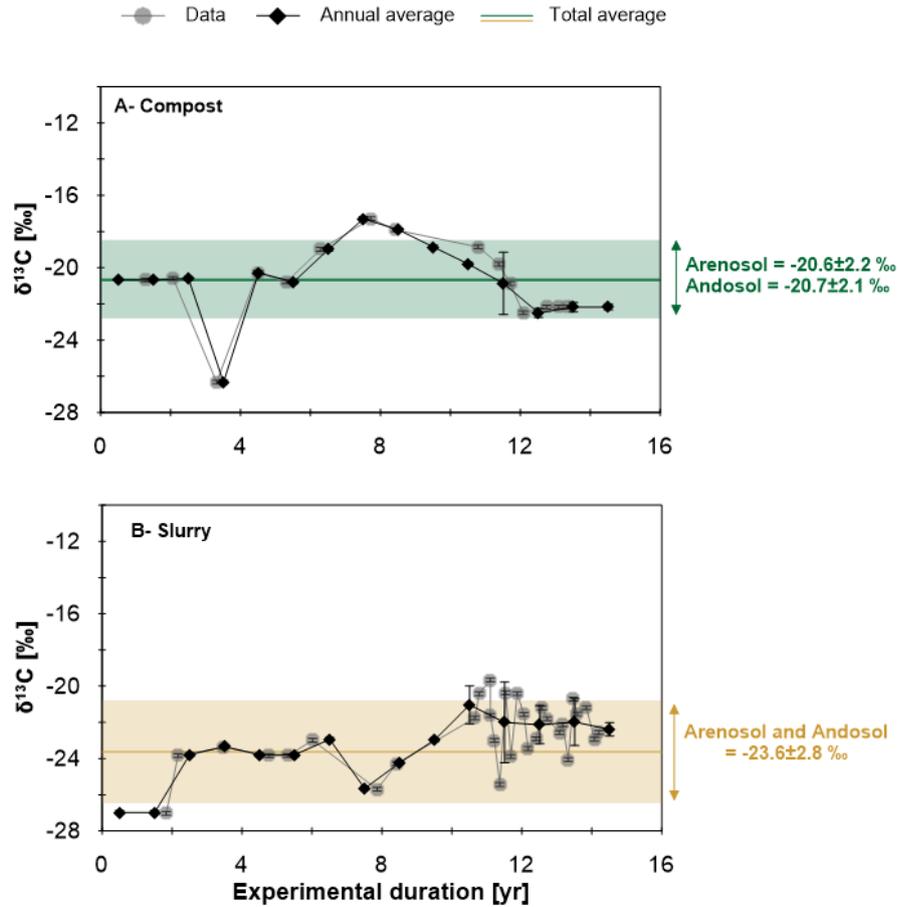
Dans toutes les équations (6, 7 et 8) l'erreur de  $\sigma_{fOF}$  et de la variabilité agronomique (inter-block) de la concentration en C est propagée. Les erreurs analytiques des mesures de la concentration en C et du  $\delta^{13}C$  ne sont pas propagées car considérées négligeables face aux variabilités de  $\sigma_{fOF}$  et des répétitions agronomiques.

## 3.11. Résultats

### 3.11.1. Caractérisation des fertilisants organiques et des biomasses aériennes durant les essais agronomiques

La variabilité temporelle de la signature isotopique des OF était forte dans l'étude de Jamoteau et al. (2021). Pour affiner cette variabilité isotopique, davantage d'échantillons de OF ont été analysés (Figure 1). Les échantillonnages d'OF ne sont pas réalisés à un intervalle de temps régulier. L'augmentation du nombre d'échantillon après la 10<sup>ème</sup> année d'expérimentation induit une sur-représentation de ces années alors que la quantité de OF-C épandue au cours du temps est stable. Pour éviter cette surreprésentation, nous avons moyenné les valeurs par année et estimé les années manquantes (2004, 2013 et 2019, soit T0, T9 et T15) par une moyenne des 2 valeurs les plus proches ou attribué la valeur la plus proche (*annual average* en Figure 1). La moyenne interannuelle est considérée comme le  $\delta^{13}C$  moyen des OFs (*total average* or  $\delta^{13}C_{OF}$ ). La variabilité du  $\delta^{13}C_{OF}$  est estimée par l'écart-type de cette moyenne interannuelle pour le compost. Pour le lisier, l'écart-type intra-annuel maximal (2.2 ‰ ; T11) et l'écart-type interannuel (1.8 ‰) sont propagés. Puisque les apports de OF sur l'Andosol ont continué jusqu'à l'année 16 et que les apports sur l'Arénosol se sont arrêtés en année 15, les résultats du  $\delta^{13}C_{OF}$  varient légèrement suivant le type de sol.

Les fractionnements des OF (Tableau 1 ; fractions <20  $\mu m$ , 20-50  $\mu m$  et >50  $\mu m$  ; photographies des fractions en Annexe 1) montrent que (i) le compost comporte 51 à 81 % de sa masse et 64 à 85 % du C dans la fraction > 50  $\mu m$ . (ii) Pour le lisier 88 à 90 % de la masse et 90 à 92 % du C se trouvent dans la fraction >50  $\mu m$ . Le  $\delta^{13}C$  des fractions <20  $\mu m$  du compost est plus élevé de +0.4 à 1.3‰ que le  $\delta^{13}C$  des fractions plus grossières. Cette différence de  $\delta^{13}C$  en fonction des fractions granulométriques est plus faible que la variabilité de  $\delta^{13}C$  temporelle du compost, elle est considérée négligeable. Pour le lisier, une variabilité inter-fractions est présente, mais, pour les deux échantillons fractionnés, le  $\delta^{13}C$  est enrichi ou appauvrit suivant les échantillons (Tableau 1). Aussi, puisque la majorité du C se trouve dans la fraction >50  $\mu m$ , la variation de  $\delta^{13}C$  en fonction des fractions granulométriques est considérée négligeable face aux variabilités temporelles du lisier.



		Total average or $\delta^{13}C_{OF}$ [‰]
Arenosol	Compost	$-20,6 \pm 2,2$
	Slurry (Lisier)	$-23,6 \pm 2,8$
Andosol	Compost	$-20,7 \pm 2,1$
	Slurry (Lisier)	$-23,6 \pm 2,8$

Figure 1. Évolution temporelle du  $\delta^{13}C$  du compost et du lisier et estimation du  $\delta^{13}C_{OF}$ . Les barres d'erreurs des données (*Data*) comprennent l'erreur analytique (de 0.1‰). Les barres d'erreurs des moyennes annuelles (*Annual average*) sont l'écart-type de cette moyenne ainsi que la propagation de l'erreur analytique. La moyenne interannuelle est considérée comme le  $\delta^{13}C$  moyen des OFs (*Total average* or  $\delta^{13}C_{OF}$ ). La variabilité du  $\delta^{13}C_{OF}$  est estimée par l'écart-type de cette moyenne interannuelle pour le compost. Pour le lisier, l'écart-type intra-annuel maximal (2.2 ‰ ; T11) et l'écart-type interannuel (1.8 ‰) sont propagés.

Tableau 1. Dosage C et analyses du  $\delta^{13}\text{C}$  des fractions de compost et de lisier. Les proportions massiques et les proportions de C sont calculées après un séchage à 30°C. *err*  $\delta^{13}\text{C}$  est l'erreur analytique de la mesure de  $\delta^{13}\text{C}$  (1 mesure).

	Fraction	Mass proportion [%]	C proportion [%]	$\delta^{13}\text{C}$ [‰ VPDB]	<i>err</i> $\delta^{13}\text{C}$ [‰ VPDB]
Compost (T11) [C] = 20.6 %	>50 $\mu\text{m}$	51	64	-20,2	0,1
	50-20 $\mu\text{m}$	15	12	-19,8	0,1
	<20 $\mu\text{m}$	34	24	-19,9	0,2
Compost (T14) [C] = 31.8 %	>50 $\mu\text{m}$	81	85	-22,4	0,2
	50-20 $\mu\text{m}$	9	8	-21,5	0,2
	<20 $\mu\text{m}$	10	7	-21,1	0,2
Lisier (T11) [C] = 43.9 %	>50 $\mu\text{m}$	90	92	-25,2	0,1
	50-20 $\mu\text{m}$	4	4	-24,0	0,2
	<20 $\mu\text{m}$	5	4	-23,0	0,1
Lisier (T14) [C] = 43.1 %	>50 $\mu\text{m}$	88	90	-21,1	0,2
	50-20 $\mu\text{m}$	6	6	-23,2	0,1
	<20 $\mu\text{m}$	5	4	-22,7	0,2

Les biomasses aériennes ont été échantillonnées durant toute la durée des essais (Edouard Rambaut et al., 2022; Figure 2). La proportion des espèces végétales a été déterminée durant la période T5 à T15 sur l'Arenosol et T6 et T17 sur l'Andosol (E. Tillard, communication personnelle, Figure 3). Sur l'Arénosol, malgré une évolution temporelle, les quantités de biomasses aériennes produites sont similaires entre les parcelles amendées et contrôles. La végétation, composée en majorité de *Chloris* (plante C4), a évolué entre les années T12 et T14 pour toutes les modalités vers un mélange plus hétérogène de *Brachia*, *Paspalum* et *Chloris* (plantes C4). Malgré ces changements, l'apport de compost et de lisier ne semble pas ou peu impacter les quantités de biomasses aériennes produites et les proportions des espèces végétales présentes. Dans l'Andosol, les quantités de biomasses aériennes produites sont identiques dans les parcelles contrôles et amendées en compost. Cependant, les parcelles amendées en compost comportent davantage de *Festuca* (plantes C3) que les parcelles contrôles (dominées par du *Dactylis*, plantes C3). Les parcelles amendées en lisier ont une quantité de biomasses aériennes et une proportion des espèces végétales différentes des parcelles contrôles.

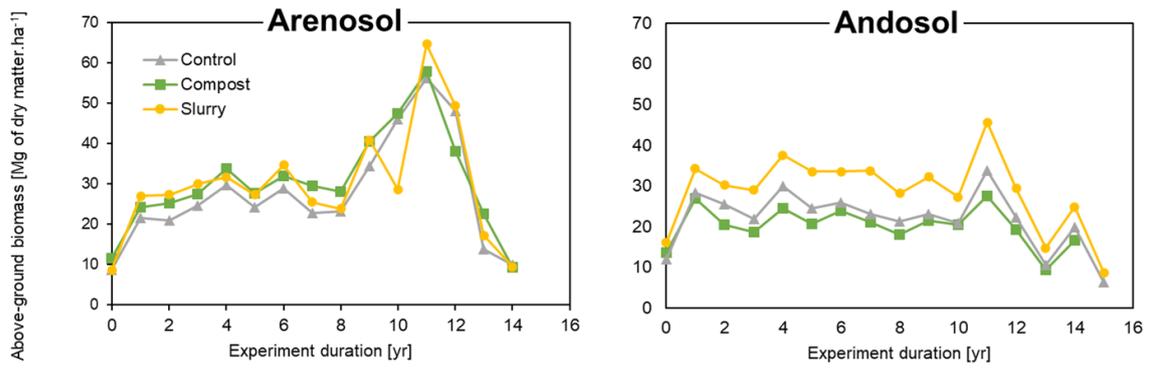


Figure 2. Quantités de biomasses aériennes échantillonnées durant les essais (issus de Edouard Rambaut et al., 2022). Données exprimées en Mg de matière sèche par hectare.

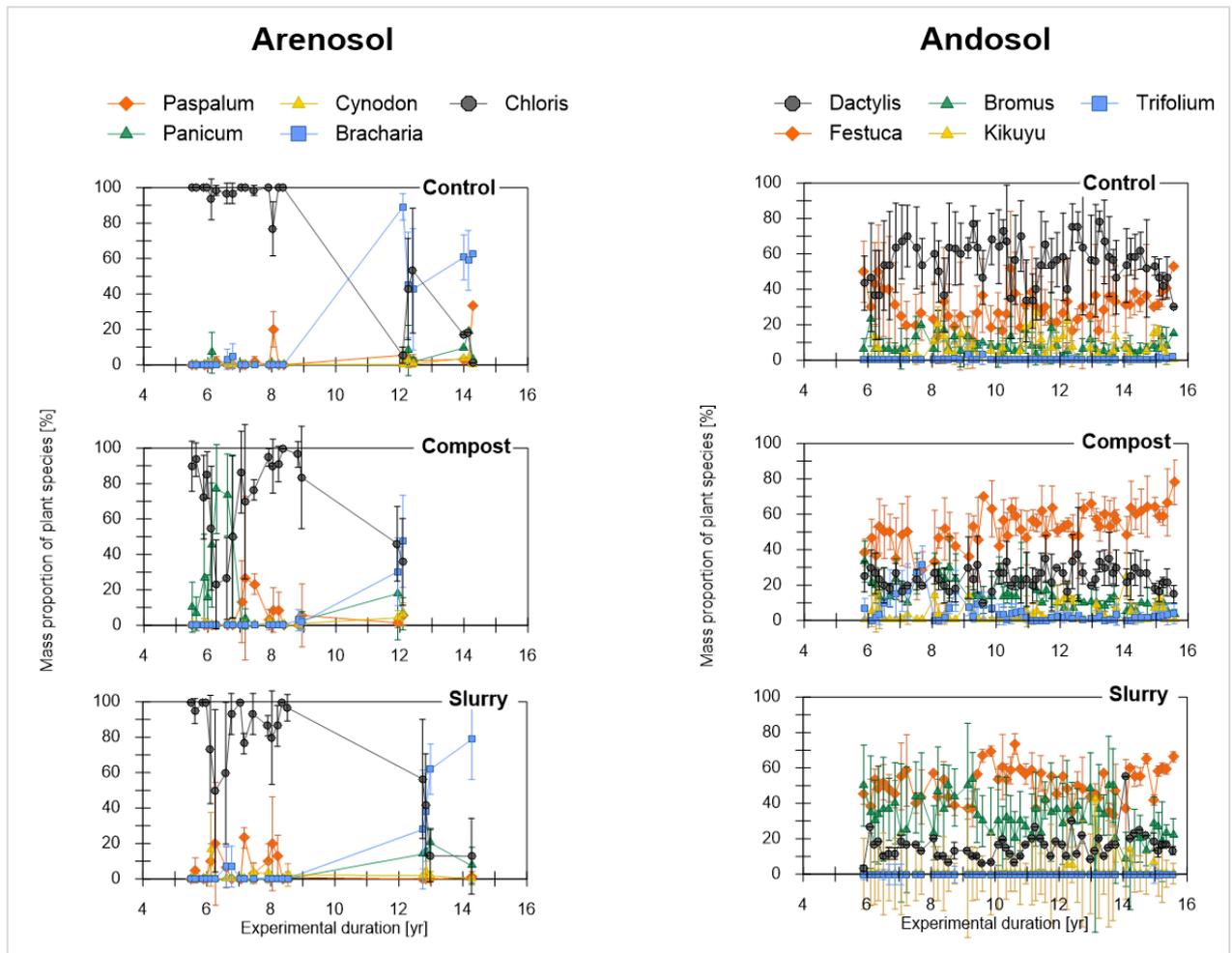


Figure 3. Proportions massiques des espèces végétales issues des prélèvements de biomasses aériennes durant les essais agronomiques. Données communiquées personnellement par Dr. E. Tillard qui a dirigé les essais agronomiques. Les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type de trois parcelles (répétitions agronomiques).

### **3.11.2. Analyses des sols après 15 à 16 ans d'apports de fertilisants organiques**

#### **3.11.2.1. Analyses minéralogiques et physico-chimiques des sols**

Le pH mesuré dans l'Arénosol est différent entre les sols amendés et le sol contrôle (Figure 4). Cette différence est de 1.5 unité pH en surface et autour de 1 unité pH en profondeur. Dans l'Andosol, le pH à la même tendance. La différence de pH entre les sols amendés et le sol contrôle est de 1.3 unité pH en surface et entre 0.3 à 0.7 unité pH en profondeur.

La minéralogie, analysée par diffraction des rayons X (DRX), de l'Arénosol est composée de feldspath plagioclase, pyroxène, olivine et hématite (Annexe 2). La minéralogie de l'Andosol est composée de feldspath plagioclase, olivine, gibbsite et hématite. Les diffractogrammes de l'Andosol comportent aussi des bandes de diffusions attribuées à des phases mal-cristallisées ou amorphes (Annexe 2). La minéralogie des sols ne varie pas avec les apports d'OF.

Dans l'Arénosol, les quantités d'Al, de Fe et de Si extraits par AOD (acide oxalique - oxalate d'ammonium) et par DCB (dithionite-citrate) sont similaires entre les sols amendés et le sol contrôle (Annexe 3). Dans l'Arénosol, les quantités de Fe et de Si extraits par pyrophosphate sont aussi similaires entre les sols amendés et le sol contrôle (Figure 5). Mais comparé au sol contrôle, la quantité d'Al extrait par pyrophosphate est plus faible pour les sols amendés sur le 0-10 cm et 10-20 cm. Cependant, cette faible différence ( $\sim 0.1 \text{ gAl.100g}^{-1} \text{ minéral}$ ) ne représente que 1% de l'Al total du sol contrôle. Dans l'Andosol, les quantités d'Al, de Fe et de Si extraits par AOD et DCB sont similaires entre les sols amendés et le sol contrôle (Annexe 3). La quantité d'Al et de Fe extraits par pyrophosphate est plus faible dans les sols amendés sur le 0-20 cm. (Figure 5). La quantité de Si extrait par pyrophosphate a aussi tendance à être plus faible dans les sols amendés, mais cette différence est faible. Ces différences sur le 0-20 cm sont de  $0.8\text{-}0.9 \text{ gAl.100g}^{-1}$ ,  $1 \text{ gFe.100g}^{-1}$  et  $0.1\text{-}0.2 \text{ gSi.100g}^{-1}$ , ce qui représente respectivement, 11 à 15 % de l'Al total, 9 à 11 % du Fe total et 1% du Si total du sol contrôle. Les différences de quantités de Fe et d'Al entre les sols amendés et le sol contrôle ne sont donc pas négligeables sur l'Andosol. Un effet de « dilution » du sol causé par l'apport de fertilisants pourrait être écarté puisque ces différences ne sont pas visibles pour les autres extractions (Annexe 3). Aussi, les données exprimées en  $\text{g.100g minéral}$  (équation 1) soustraient ce possible effet de « dilution » par l'apport d'OF.

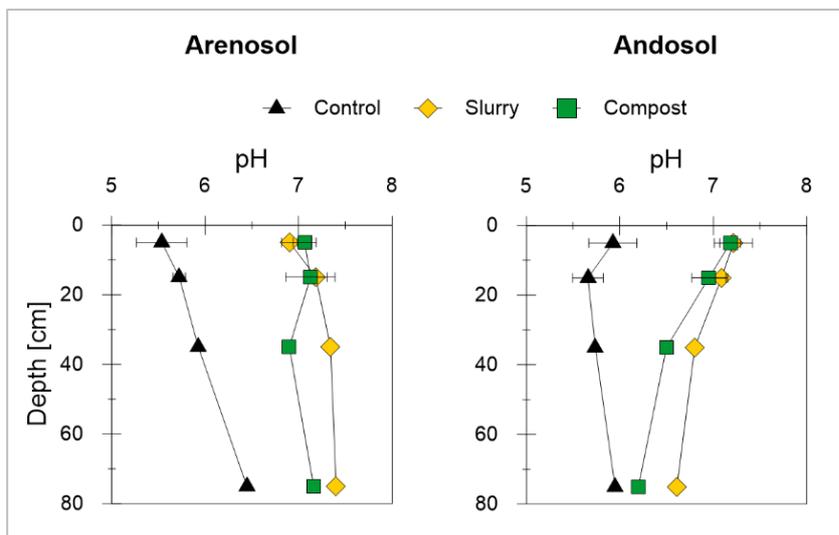


Figure 4. Mesures de pH de l'Arénosol et l'Andosol sur les sols *bulk*. PH mesuré dans de l'eau. La barre d'erreur est l'écart type des 3 blocs de répétitions agronomiques pour les horizons 0-10 cm et 10-20 cm.

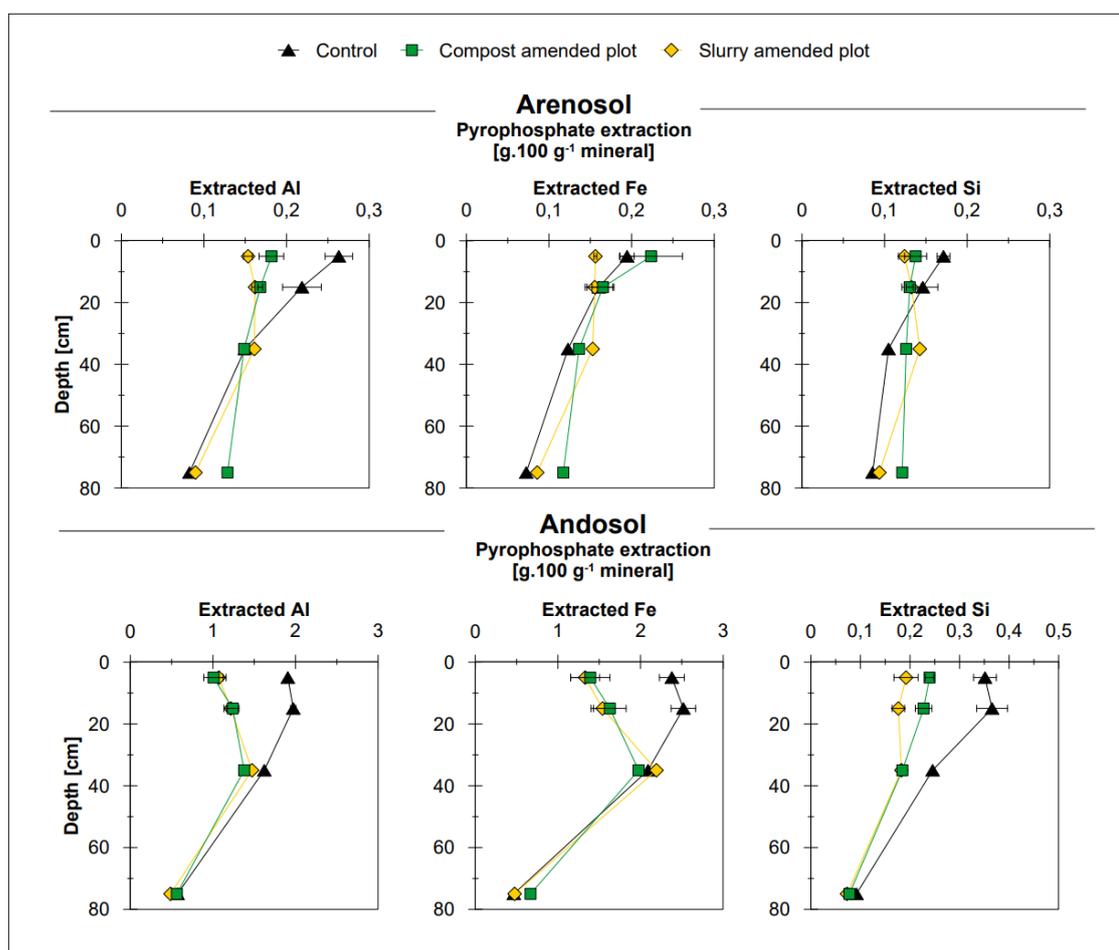


Figure 5. Al, Fe et Si extraits par pyrophosphates sur l'Arénosol et l'Andosol. Extractions élémentaires effectuées sur les sols *bulk*. La barre d'erreur est l'écart type des 3 blocs de répétitions agronomiques pour les horizons 0-10 cm et 10-20 cm.

### 3.11.2.2. Analyses de la concentration en C et de $\delta^{13}\text{C}$ des sols

Dans l'Arénosol, la concentration en C des sols amendés est plus élevée que celle du sol contrôle sur le 0-20 cm (excepté l'horizon 0-10 cm du sol amendé en compost, t-test = 0,056 ; Figure 6). Dans l'Andosol, la concentration en C du sol amendé en compost est plus élevée sur l'horizon 0-20 cm que celle du sol contrôle, mais cette augmentation n'est pas significative par t-test. La concentration en C du sol amendé en lisier est plus élevée sur l'horizon 0-10 cm que celle du sol contrôle, mais cette augmentation n'est pas significative par t-test.

Dans l'Arénosol, le  $\delta^{13}\text{C}$  de la végétation est de type C4, autour de -13,9 ‰ (Jamoteau et al., 2021). Le C provenant du compost et du lisier a un  $\delta^{13}\text{C}$  de  $-20.6 \pm 2.2$  ‰ et  $-23.6 \pm 2.8$  ‰, respectivement. En surface, les sols amendés ont un  $\delta^{13}\text{C}$  appauvri d'environ -18.5 ‰ comparé au sol contrôle d'environ -16.3 ‰ (Figure 6). Dans le sol amendé en compost, cette différence est significative seulement sur l'horizon 0-10 cm. Dans le sol amendé en lisier, cette différence est significative sur l'horizon 0-20 cm. Plus en profondeur, une tendance est visible, mais non significative. La proportion de OF-C, calculée pour les différences isotopiques significatives (entre sol amendé et contrôle) permet de quantifier  $61 \pm 29$  % de C dérivé du compost dans l'horizon 0-10 cm. Le pourcentage de C dérivé du lisier est de  $34 \pm 12$  % dans l'horizon 0-10 cm et de  $28 \pm 11$  % dans l'horizon 10-20 cm.

Dans l'Andosol, le  $\delta^{13}\text{C}$  de la végétation est de type C3, autour de -27.8 ‰ (Jamoteau et al., 2021). Le C provenant du compost ou du lisier a un  $\delta^{13}\text{C}$  de  $-20.7 \pm 2.1$  ‰ et  $-23.6 \pm 2.1$  ‰, respectivement. En surface, le  $\delta^{13}\text{C}$  du sol amendé en compost, d'environ -23.0 ‰, est plus enrichi que le  $\delta^{13}\text{C}$  du sol contrôle d'environ -24.5 ‰ (Figure 6). Cette différence est significative sur le 0-20 cm. Plus en profondeur, le  $\delta^{13}\text{C}$  du sol contrôle et amendé est similaire. Le pourcentage de C dérivé du compost est estimé, à  $47 \pm 26$  % dans l'horizon 0-10 cm et à  $30 \pm 17$  % dans l'horizon 10-20 cm. Pour le sol amendé en lisier, aucune différence de  $\delta^{13}\text{C}$  n'est mesurée avec le sol contrôle car la signature du lisier est similaire au  $\delta^{13}\text{C}$  du sol contrôle.

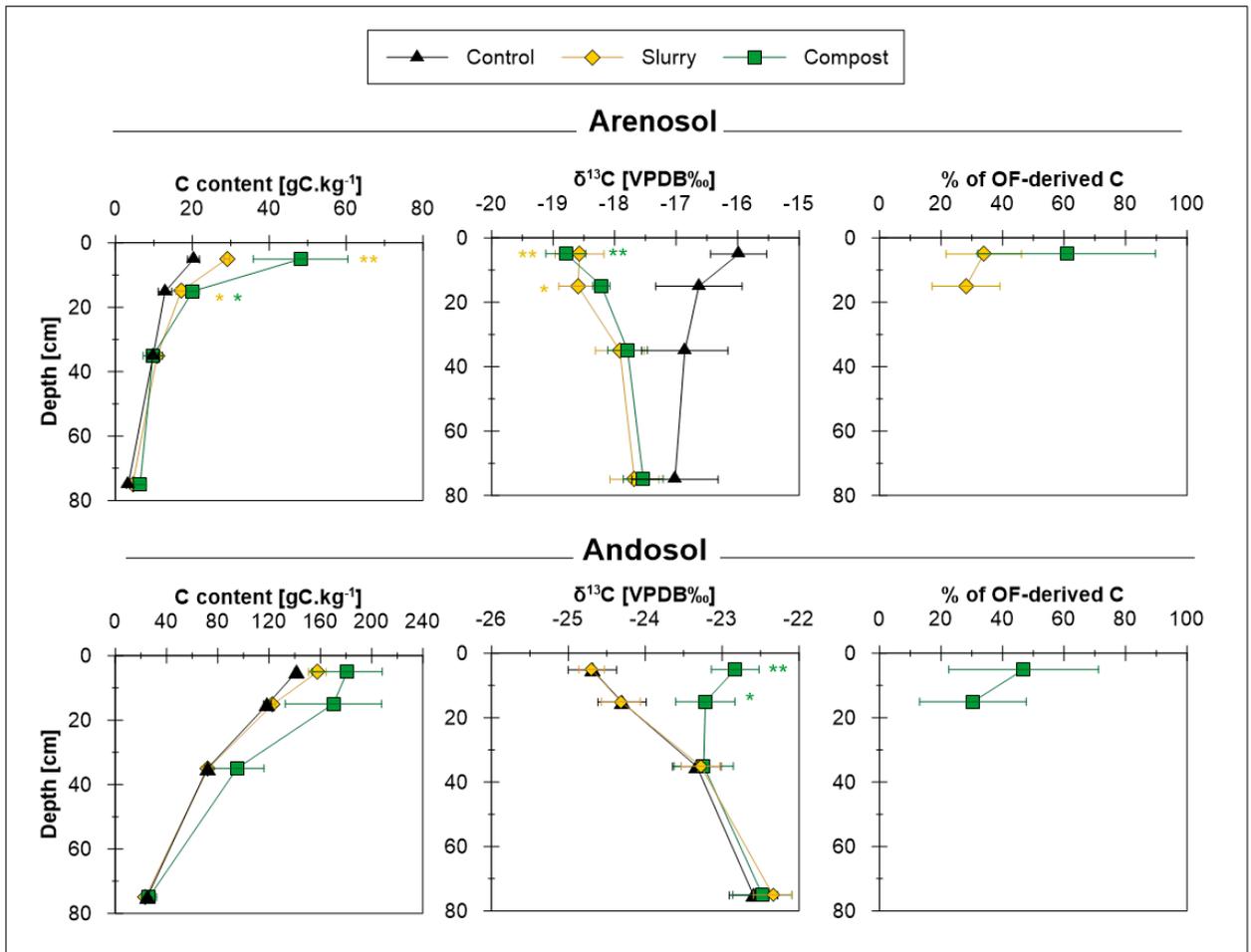


Figure 6. Dosages de C, analyses du  $\delta^{13}\text{C}$  et calculs de proportions du OF-C de l'Arénosol et de l'Andosol. La barre d'erreur est l'écart type des 3 blocs de répétitions agronomiques pour les horizons 0-10 et 10-20 cm ou une projection de l'erreur pour les horizons 20-50 et 50-100 cm (voir méthode 3.10.7). \*, \*\* et \*\*\* indiquent les différences significatives entre sols amendés et le sol contrôle par évaluation d'un *test t* de Student ( $p < 0,05$ ,  $< 0,01$  ou  $< 0,001$ , respectivement).

### 3.11.3. Analyses des fractions de sols après 15 à 16 ans d'apports de fertilisants organiques

#### 3.11.3.1. Recouvrement massique des fractions

Le recouvrement massique des fractions (<20 µm, 20-50 µm et >50 µm) pour l'Arénosol est de 99 à 103% et pour l'Andosol de 84 à 99 %.

Dans le sol contrôle de l'Arénosol, la proportion massique entre les fractions est d'environ 68 % dans la fraction >50 µm, 12 % dans la fraction 50-20 µm et 19% dans la fraction <20 µm sur les horizons 0-50 cm (Figure 7). Plus en profondeur, la proportion de la fraction >50 µm augmente et/ou la proportion de fractions <20 µm diminue (respectivement 84 % et 9 %). Dans l'Arénosol amendé en compost et en lisier, les tendances sont similaires excepté sur l'horizon 50-100 cm qui comporte plus de proportion massique des fractions <20 µm (entre 15 et 16 %).

Dans le sol contrôle de l'Andosol, la proportion massique entre les fractions est assez stable sur tout le profil de sol avec environ 36 % de masse dans la fraction <50 µm, 16 % dans la fraction 50-20 µm et 49 % dans la fraction <20 µm. Dans les sols amendés,

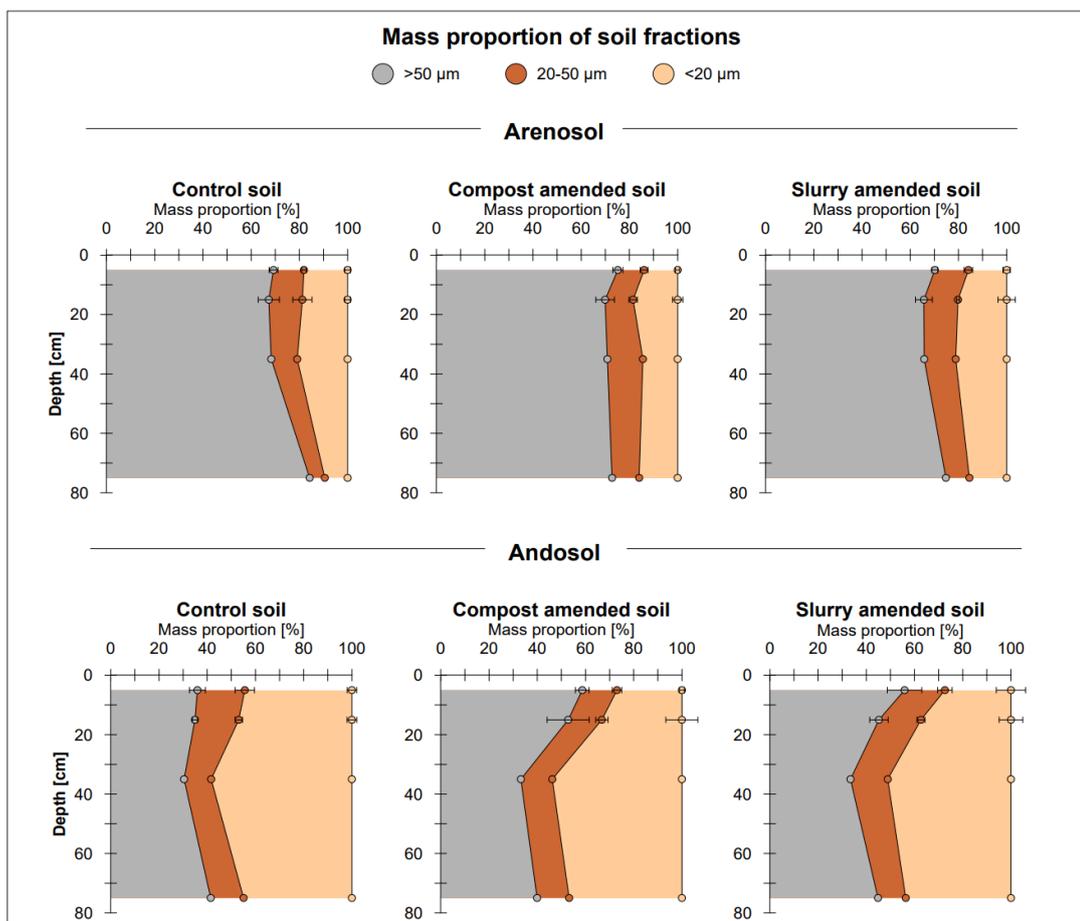


Figure 7. Répartition massique entre les fractions de l'Andosol et l'Arénosol. Le recouvrement massique des fractions (< 20 µm, 20-50 µm et >50 µm) pour l'Arénosol est de 99 à 103% et pour l'Andosol de 84 à 99 %. La barre d'erreur est l'écart type des 3 blocs de répétitions agronomiques pour les horizons 0-10 et 10-20 cm.

la proportion des fractions <20 µm est plus faible dans l'horizon 0-20 cm que dans le sol contrôle ou bien, la proportion des fractions > 50 µm est plus forte.

### 3.11.3.2. Minéralogie des fractions de sols

La minéralogie de l'Arénosol, analysée par DRX, est assez similaire entre les sols amendés et le sol contrôle (Figure 8). Dans les diffractogrammes des fractions fines, les pics de diffraction sont moins intenses que dans les diffractogrammes des fractions >50 µm. Aussi, les diffractogrammes des fractions 20-50 µm et <20 µm ont des bandes de diffusion autour de 4° attribuées à des phases mal-cristallisées ou amorphes (exceptée la fraction <20 µm du sol amendé en lisier).

Dans les sols amendés et le sol contrôle de l'Andosol, les diffractogrammes des fractions fines ont des pics de diffraction moins intenses que ceux des fractions >50 µm. Des bandes de diffusion, autour de 4-4.8° et 6.5°, sont attribuées à des phases mal-cristallisées ou amorphes. Elles sont présentes dans tous les diffractogrammes des fractions de l'Andosol.

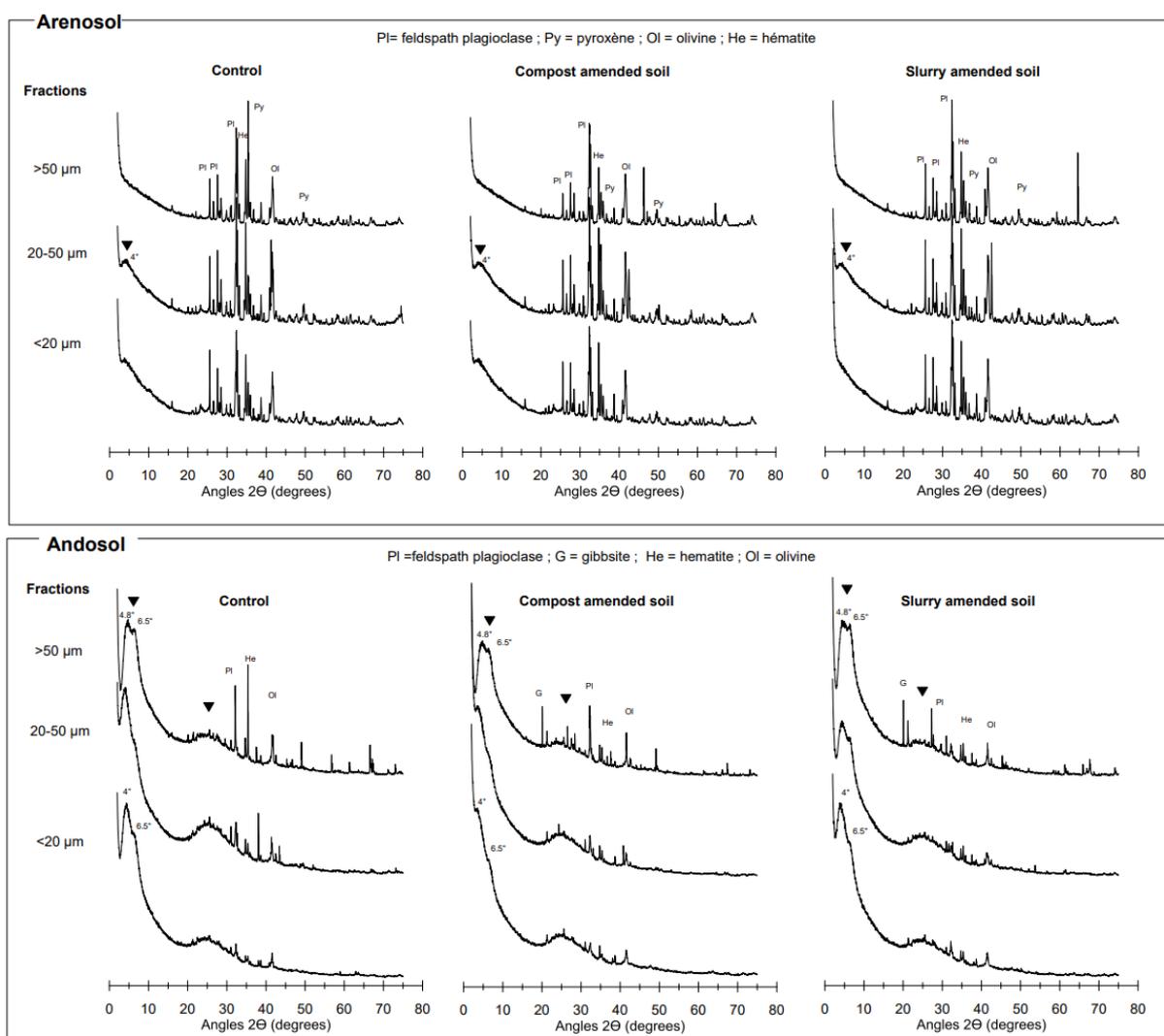


Figure 8. Minéralogie par DRX des fractions de l'Arénosol et de l'Andosol. Seul le bloc 1 est analysé pour les horizons 0-10 et 10-20 cm.

### 3.11.3.1. Analyses de la concentration en C et de $\delta^{13}\text{C}$ des fractions de sols

Les recouvrements de C des fractionnements (<20  $\mu\text{m}$ , 20-50  $\mu\text{m}$  et >50  $\mu\text{m}$ ) de l'Arénosol sont de 81 à 103 %. Les recouvrements de C des fractionnements de l'Andosol sont de 84 à 103 %. Les fractions liquides évacuées après les décantations des fractions <20  $\mu\text{m}$  contiennent à 0.5 à 3.5 % du C de l'Arénosol et entre 0.1 et 5 % du C de l'Andosol. Cette quantité de C évacué par décantation est considérée comme négligeable et n'est pas comprise dans le bilan de recouvrement de C des fractionnements.

Les recouvrements de  $\delta^{13}\text{C}$  des fractions (moyenne pondérée par la masse de chaque fraction) comportent des écarts avec les valeurs mesurées sur les sols *bulk* de 0 à 0.6 ‰ dans l'Arénosol et 0 à 0.3 ‰ (excepté l'horizon 50-100 cm du sol contrôle qui a un écart de 0.7 ‰) dans l'Andosol (Annexe 4).

Dans l'Arénosol, la quantité de C (exprimée en gC par fraction.kg de sol *bulk*<sup>-1</sup>) dans les fractions >50  $\mu\text{m}$  augmente significativement pour les sols amendés en comparaison du sol contrôle sur l'horizon 0-10 à 0-20 cm (Figure 9). L'augmentation est très faible ou inexistante pour les fractions 50-20  $\mu\text{m}$  et <20  $\mu\text{m}$ . Le  $\delta^{13}\text{C}$  des fractions de sols amendés est significativement différent du sol contrôle pour les fractions >50  $\mu\text{m}$  et 50-20  $\mu\text{m}$  sur l'ensemble du profil de sol (excepté la fraction 50-20  $\mu\text{m}$  de l'horizon 50-100 cm du sol amendé avec du compost). Les fractions <20  $\mu\text{m}$  ont un  $\delta^{13}\text{C}$  significativement différent du sol contrôle dans l'horizon de sol 0-10 à 0-20 cm. Plus en profondeur, la signature est similaire pour les sols amendés et le sol contrôle. Pour les différences de  $\delta^{13}\text{C}$  significatives, une quantification par la méthode isotopique a permis de calculer la proportion de C dérivé des fertilisants organiques dans chaque fraction granulométrique (Figure 9).

Dans l'Andosol, les sols amendés ont une augmentation significative de la quantité de C dans les fractions >50  $\mu\text{m}$  jusqu'à 0-20 cm ou 0-100 cm (comparé aux fractions >50  $\mu\text{m}$  du sol contrôle ; Figure 10). Dans les fractions 20-50  $\mu\text{m}$ , très peu ou pas d'augmentation significative de C n'est analysée. Dans les fractions <20  $\mu\text{m}$ , aucune augmentation significative de C n'est mesurée, au contraire, la quantité de C des sols amendés en compost est plus faible comparée au sol contrôle sur l'horizon 0-20 cm. Le  $\delta^{13}\text{C}$  dans l'horizon 0-20 cm est significativement différent entre le sol amendé en compost et le sol contrôle dans les fractions > 50  $\mu\text{m}$  et 50-20  $\mu\text{m}$ . Pour les fractions <20  $\mu\text{m}$ , seul l'horizon 0-10 cm a un  $\delta^{13}\text{C}$  différent du sol contrôle. Pour les différences de  $\delta^{13}\text{C}$  significatives, une quantification par méthode isotopique a permis de calculer la proportion de C dérivé des fertilisants organiques dans chaque fraction granulométrique (Figure 10).

## Arenosol

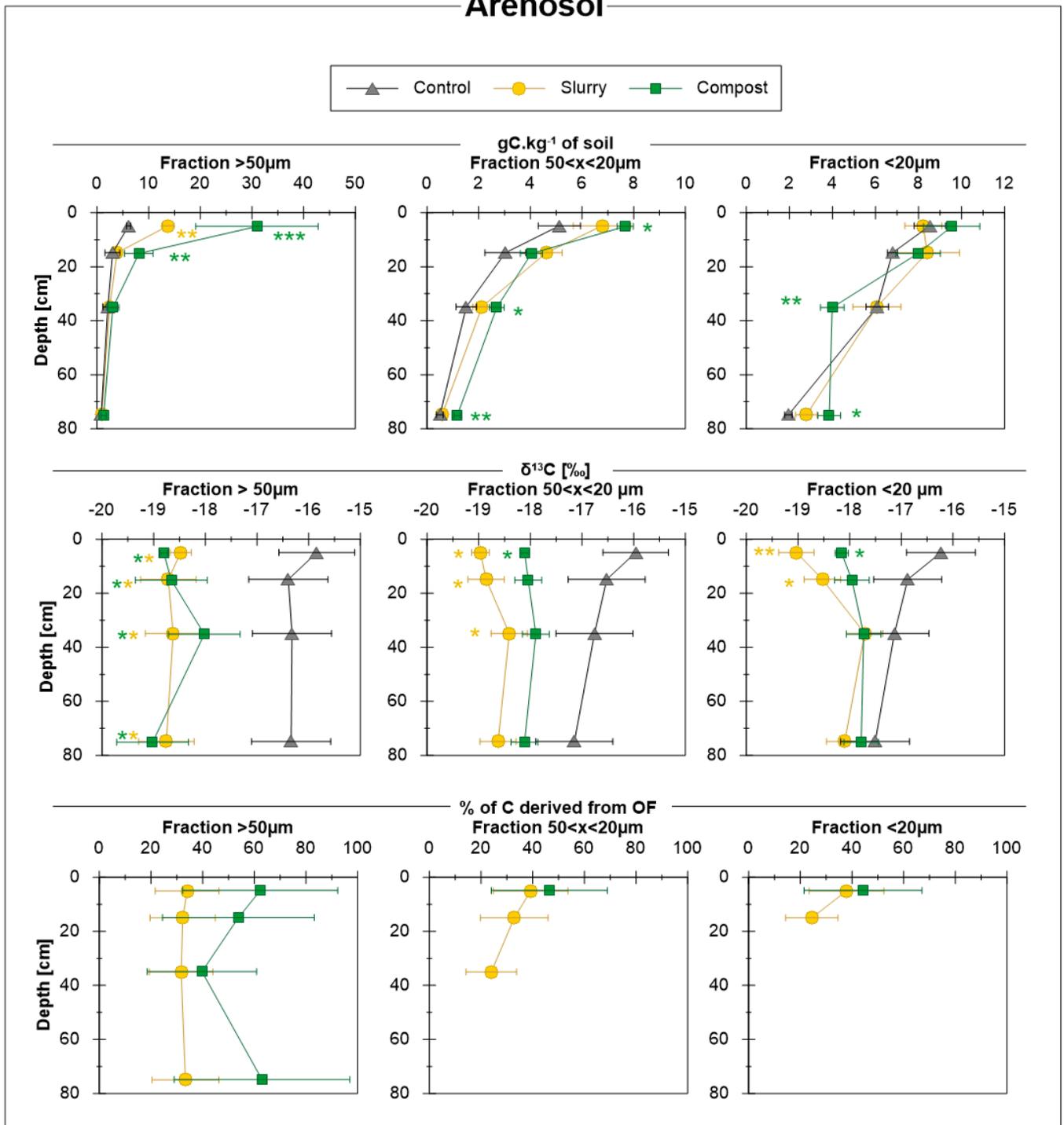


Figure 9. Profil vertical de C,  $\delta^{13}\text{C}$  et OF-C dans les trois fractions de l'Arénosol. La barre d'erreur est l'écart type des 3 blocs de répétitions agronomiques pour les horizons 0-10 et 10-20 cm ou une projection de cette erreur pour les horizons 20-50 et 50-100 cm (voir méthode 3.10.7). \*, \*\* et \*\*\* indiquent les différences significatives entre les sols amendés et le sol contrôle par évaluation avec un test t de Student ( $p < 0,05$ ,  $< 0,01$  ou  $< 0,001$ , respectivement).

## Andosol

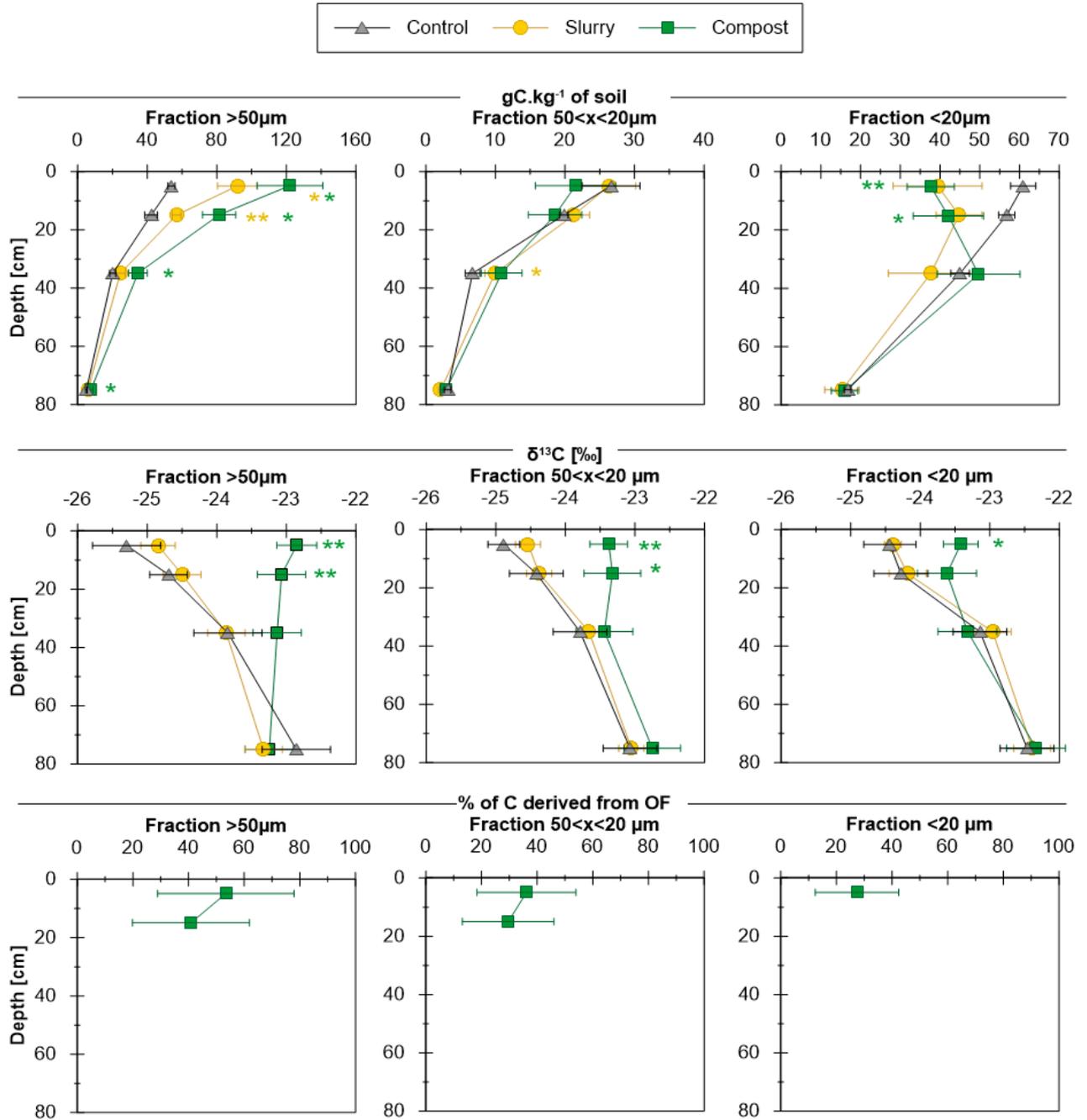


Figure 10. Profil vertical de C,  $\delta^{13}\text{C}$  et OF-C dans les trois fractions de l'Andosol. La barre d'erreur est l'écart type des 3 blocs de répétitions agronomiques pour les horizons 0-10 et 10-20 cm ou une projection de cette erreur pour les horizons 20-50 et 50-100 cm (voir méthode 3.10.7). \*, \*\* et \*\*\* indiquent les différences significatives entre les sols amendés et le sol contrôle par évaluation avec un test t de Student ( $p < 0,05$ ,  $< 0,01$  ou  $< 0,001$ , respectivement).

## 3.12. Discussion

Cette discussion succincte exploite une partie des résultats acquis à ce jour.

### 3.12.1. Pertinence du traçage isotopique sur les deux sols

Dans l'Arénosol, l'estimation d'OF-C diffère entre la méthode soustractive et isotopique (Figure 11). Les biomasses aériennes échantillonnées sur l'Arénosol ont des changements au cours du temps mais ils ne semblent pas ou peu reliés à l'effet des fertilisants organiques (Figure 2 et 3). Cependant les biomasses aériennes ne reflètent pas le système racinaire. De plus, l'estimation de la quantité de OF-C par la méthode soustractive requière que l'apport de OF-C n'influe pas sur la stabilisation du C issu de végétation (végétation-C) et sur le C antérieur aux apports (initial-C). Ainsi, la méthode isotopique semble plus adaptée pour estimer le OF-C. L'utilisation de l'approche  $^{13}\text{C}$  sur les fractions de sol a permis d'obtenir des signatures isotopiques plus distinctes entre les sols amendés et sol contrôle que pour les échantillons *bulks* (Figure 6 et 9). Ce résultat démontre des dynamiques de C différentes entre les fractions de sol isolées.

Dans l'Andosol, la végétation entre les parcelles amendées et contrôles a évolué différemment au cours des 16 années de fertilisation. Cette évolution ne permet pas de quantifier le OF-C par une méthode soustractive. Cependant, puisque la végétation reste de type C3 sur toutes les parcelles nous supposons que le traçage isotopique du compost dans l'horizon 0-20 cm est applicable. Plus en profondeur, cette méthode n'est plus applicable car la signature isotopique est trop proche entre le compost et le sol contrôle (Figure 10). Comme pour l'Arénosol, l'approche  $^{13}\text{C}$  sur les fractions de l'Andosol (0-20 cm) a permis d'obtenir des signatures isotopiques plus distinctes entre sols amendés et sol contrôle que pour les échantillons *bulks*, suggérant une dynamique de C différente suivant les fractions de sols (Figure 10).

Par conséquent, la suite de la discussion, porte sur les résultats issus du traçage isotopique effectué sur les fractions de sol.

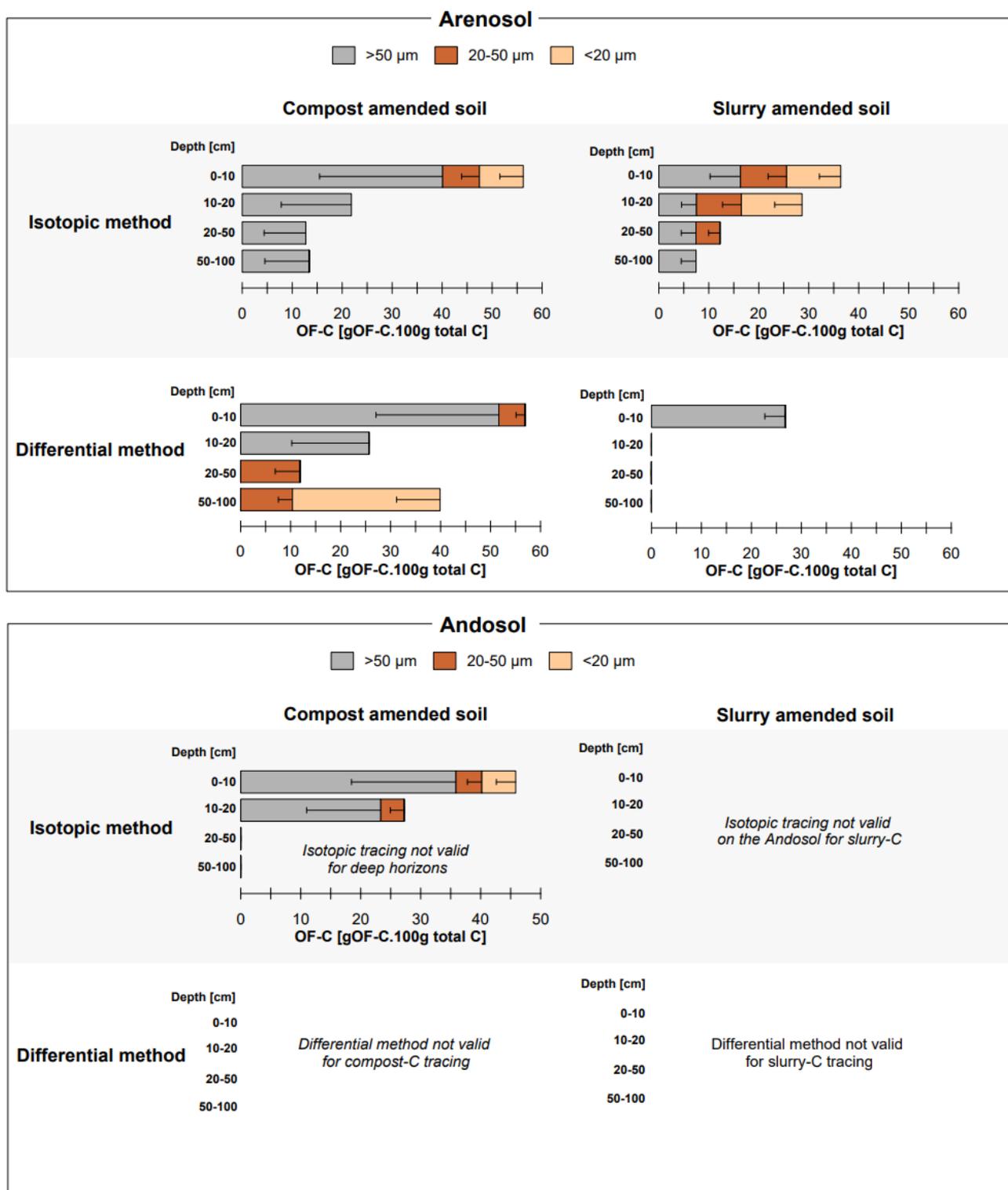


Figure 11. Quantité de C dérivé des fertilisants organiques (OF-C) par la méthode isotopique et la méthode soustractive (*differential method*). Les barres d'erreurs sont tracées dans un seul sens pour faciliter la lecture. Dans ce sous chapitre de thèse, les données de biomasses aériennes montrent des changements de végétation (de type et de quantité) entre l'andosol amendés et contrôle, ce qui ne permet pas de calculer les quantités de OF-C par la méthode soustractive.

### 3.12.2. Une détection de OF-C en profondeur, mais pas de stockage additionnel

Le traçage isotopique, sur l'ensemble du profil de l'Arénosol, détecte  $4.1 \pm 1.3 \text{ kgC.m}^{-2}$  de C issu du compost et  $2.7 \pm 0.4 \text{ kgC.m}^{-2}$  de C issu du lisier après 15 ans d'apports successifs (Figure 12). Pour ces deux apports, l'horizon 20-100 cm contribue respectivement à hauteur 26 à 28 % du OF-C détecté et l'horizon 50-100 cm contribue entre 8 et 14 %. Pourtant ces horizons profonds de l'Arénosol (20-100 cm) ne comportent pas ou peu d'augmentation significative de C (échantillons bulk et fractionnés Figure 6 et 10). Par conséquent, du OF-C est détecté sur le 20-100 cm mais ce n'est pas un stockage additionnel de C. Parmi les quelques études qui ont quantifié le OF-C dans les horizons inférieurs à 30 cm (Liang et al., 2012; Fan et al., 2014; Palazzolo et al., 2019; Zieger et al.,

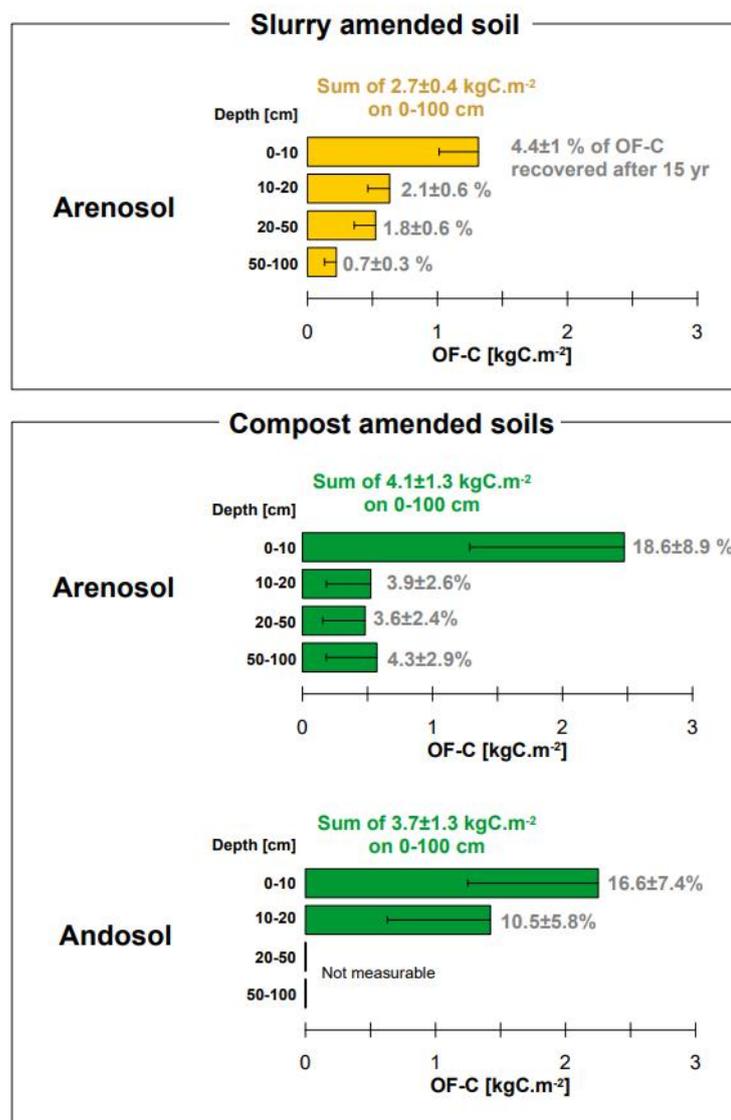


Figure 12 Stock de C dérivé des fertilisants organiques ( $OF - C_{stock}$ ) et recouvrements de OF-C après 15 à 16 ans d'apports continus. Les barres d'erreurs sont tracées dans un seul sens pour faciliter la lecture. Ce bilan est issu de la somme du traçage isotopique sur les fractions de sols montré en Figure 11.

2018), seuls Zieger et al. (2018) ont estimé du C dérivé de sciures de bois de l'ordre de 1.5 kgC.m<sup>-2</sup> dans l'horizon 25-40 cm et Fan et al. (2014) ont montré qu'environ 0.2 kgC.m<sup>-2</sup> dérivé de compost se trouvait dans l'horizon 40-60 cm. Ces deux études faites avec une méthode soustractive déduisent un stockage additionnel de C en profondeur. Nos résultats montrent que même si une méthode soustractive ne permet pas de détecter du OF-C suite à des apports, les horizons profonds peuvent être soumis à des dynamiques de renouvellements ou des remplacements de végétation-C ou initial-C par du OF-C. Ainsi, le C des horizons profonds des sols est à prendre en compte lors de pratiques restockantes de C dans les sols.

### **3.12.3. Dynamique des POM jusqu'à 1 m de profondeur**

Sur l'Arénosol et l'Andosol, la majorité du C issu du compost, détecté après 15 ans d'apports, est retrouvé dans la fraction >50 µm, et donc probablement sous forme de POM (Cotrufo et al., 2019; Lavalée et al., 2020). Sur le 0-10 à 0-20 cm, ce OF-C est aussi mesuré par la méthode soustractive, ce qui suggère un stockage additionnel de C sous forme de POM (Figure 9 et 11). Ces résultats sont cohérents avec diverses études montrant un stockage additionnel de OF-C sous forme de POM dans les 30 premiers centimètres du sol (Amelung et al., 1999; Kristiansen et al., 2005; Lynch et al., 2006; Nicolás et al., 2017; Sleutel et al., 2006). Plus en profondeur sur l'Arénosol, une détection de OF-C est présente, mais non un stockage additionnel (cf discussion 3.12.2.). Pourtant, les POM de l'Arénosol comportent 30 et 60 % de OF-C jusqu'à 1 m de profondeur (Figure 7), ce qui suggère une dynamique de renouvellement de cette fraction de 30 à 60 % sur 15 ans. Le temps de résidence de la fraction POM étant de l'ordre de quelques années à la centaine d'années (Trumbore et al., 1989; Bol et al., 2009; Feng et al., 2016), il est donc possible que des POM issues de OF aient renouvelé une partie des POM initiales ou issues de végétation. Le transfert vertical de ces POM pourrait s'expliquer par (i) du transfert particulaire dû la texture de l'Arénosol, surtout pour les apports de lisier (par l'apport de liquides lors de l'épandage et donc d'un flux liquide permettant une percolation). (ii) Par l'activité biologique (e.g. vers de terre ; Jégou et al., 1998; Shuster et al., 2002). (iii) Mais aussi par les racines qui peuvent se retrouver jusqu'à 60 cm en prairie tropicale (Canadell et al., 1996) et ainsi créer des voies d'écoulements (Cheng et al., 2011). Pour conclure, comme la littérature le suggère, le stockage additionnel de OF-C est retrouvé sous forme de POM dans les horizons 0-20 cm. Cependant nos données montrent aussi un renouvellement d'une partie considérable des POM jusqu'à 1 m de profondeur. Ce renouvellement est détecté dans l'Arénosol. En revanche, sur l'horizon 20-100 cm de l'Andosol, les signatures isotopiques entre les OF et le sol sont trop proches pour détecter du OF-C par la méthode isotopique. A ce jour, la détection ou non de OF-C en profondeur sur l'Andosol est inconnue.

### **3.12.4. Dynamique de la fraction < 20 µm**

Dans la littérature, quelques publications montrent que l'apport de fertilisants organiques pourrait entraîner la formation d'associations organo-minérales (Wen et al.,

2019, 2021; Yu and Liu, 2022). Dans l'Arénosol, nos résultats ne montrent pas d'augmentation de quantité de C dans les fractions  $<20 \mu\text{m}$ , et donc pas d'augmentation de quantité de MAOM dans les sols amendés (Figure 9). Pourtant, sur le 0-10 à 0-20 cm de l'Arénosol, les fractions fines comportent 25 à 48 % de OF-C. Il est donc possible que le OF-C soit (i) préférentiellement incorporé sous forme de MAOM par rapport au végétation-C (puisque sur 15 ans, l'Arénosol contrôle a une augmentation en C ; Jamoteau et al., 2021) ; (ii) ou bien, que le OF-C sous forme de MAOM remplace du végétation-C ou du initial-C (*via* un priming effect ; Bernard et al., 2022) (iii) il est aussi possible qu'une déstabilisation de C sous forme de MOAM ait lieu dans les fractions  $<20 \mu\text{m}$  (*via* priming effect), parallèlement à une incorporation de petites POM issu des OF (inférieures à  $20 \mu\text{m}$ ). Dans tous les cas après 15 ans, 25 à 48 % du C des fractions  $<20 \mu\text{m}$  est issu des OF. Comme mentionné en introduction, le temps de renouvellement de ces fractions est très hétérogène, de l'ordre de la dizaine à plusieurs centaines d'années (Balesdent et al., 1996 ; Trumbore et al., 1989; Bol et al., 2009; Feng et al., 2016). Malgré le flou sur les mécanismes en jeu, l'apport de d'OF en contexte de prairie tropicale semble avoir un effet sur les fractions  $<20 \mu\text{m}$  de l'Arénosol en surface.

Dans l'Andosol, aucune augmentation de C dans la fraction  $<20 \mu\text{m}$  n'est mesurée. Au contraire, une plus faible quantité de C est quantifiée en contexte d'apport organique couplé à un changement de végétation. Ces différences de quantité de C ne semblent pas causées par une différence de concentration en C (concentration stable, Annexe 5), mais plutôt liées à une différence de masse de la fraction  $<20 \mu\text{m}$ . Les quantités d'Al, Fe et de Si extraits par pyrophosphates (Figure 5) sont aussi plus faibles sur le 0-20 cm des sols *bulks* amendés comparé au sol contrôle. Ces extractions par pyrophosphates ont pour objectif d'extraire les cations métalliques qui ont formé des complexes avec les MO du sol (Rennert, 2018). Bien que les extractions par pyrophosphates soient faites sur les sols bulks, la corrélation de perte de C de la fraction  $<20 \mu\text{m}$  et de perte d'Al, Fe et Si pourrait être liée à une perte de quantité de MAOM dans les  $<20 \mu\text{m}$  de l'Andosol entre les différentes modalités. Ces changements pourraient provenir d'une fragilisation des MAOM par les apports organiques (*priming effect*, Bernard et al., 2022) et/ou d'une plus forte stabilisation de végétation-C sous forme de MAOM dans le sol contrôle. Dans le premier cas, les apports de OF pourraient induire un priming effect (biotique par stimulation de communauté microbienne ou abiotique par modification des conditions physico-chimiques reflétées par les différences de pH). Pour finir, malgré le flou sur les mécanismes en jeu, les fractions  $<20 \mu\text{m}$  de l'Andosol en surface sont, en partie, dynamiques en 16 ans seulement.

### **3.13. Premières conclusions et perspectives du projet AddSOC-dt**

L'apport de fertilisants organiques aux sols a permis un stockage additionnel de C sous forme de POM dans les horizons 0-20 cm de l'Arénosol et de l'Andosol. L'étude des horizons profonds de l'Arénosol a permis de détecter du OF-C sous forme de POM jusqu'à

1 m de profondeur. Dans ces horizons profonds, aucune augmentation significative de C n'est observée, ce qui suggère un renouvellement de la fraction POM sur 15 ans, plutôt qu'un stockage additionnel de C. Cette détection en profondeur sur l'Arénosol suggère donc un transfert vertical rapide du OF-C sous forme de POM dans ces prairies tropicales. Sur l'horizon 0-20 cm de l'Arénosol, les fractions <20 µm ne montrent pas d'augmentation de la quantité de C alors que du OF-C est détecté dans toutes les fractions. Ce OF-C pourrait remplacer du C issu de la végétation ou antérieur à l'essai et/ou être préférentiellement incorporé par rapport au C issu de la végétation. Dans l'Andosol, des changements de quantité de C dans les fractions <20 µm en fonction des modalités mettent aussi en évidence un dynamisme en 16 ans seulement. Pour conclure, dans ce contexte d'apport d'OF en prairie subtropicale, deux résultats semblent novateurs (i) un renouvellement et un transfert vertical des POM sur le 20-100 cm de l'Arénosol et (ii) un dynamisme d'une partie des MAOM en surface pour l'Arénosol et l'Andosol.

Les perspectives de ce projet MITI AddSOC-dt, se divisent en 2 tâches :

- En premier, il s'agira de poursuivre l'acquisition isotopique  $^{14}\text{C}$  sur l'Arénosol *bulk* et l'Andosol *bulk*, ainsi que sur une partie des fractions de sols. À la suite de ces analyses, un volet statistique sera réalisé avec des équations combinées des diverses méthodes de quantifications (soustractive,  $^{13}\text{C}$  et  $^{14}\text{C}$  ;Ndour et al., 2022). Ces analyses en équation combinées seront spécifiquement utilisées sur les horizons profonds de l'Andosol, afin de quantifier le C récent. Mais aussi sur les fractions MOAM afin de quantifier l'impact des fertilisants sur les MO initiales et issues de la végétation.
- En fonction du temps et des fonds disponibles, une sélection pertinente de paires de fractions témoin/amendement seront d'observé aux micro et nano-échelles (MEB-FEG; CP2M Marseille). Afin d'essayer (1) d'observer de manière directe les apports de MO tracés par les approches géochimiques et (2) de déterminer dans quelle mesure les associations organo-minérales sont impliquées dans la dynamique de ces entrées de MO nouvelles et/ou dans la dynamique des MO natives.

### 3.14. Références bibliographiques

- Alexander, E.B., 1980. Bulk Densities of California Soils in Relation to Other Soil Properties  
1. Soil Sci. Soc. Am. J. 44, 689-692.  
<https://doi.org/10.2136/sssaj1980.03615995004400040005x>
- Amelung, W., Bol, R., Friedrich, C., 1999. Natural  $^{13}\text{C}$  abundance: a tool to trace the incorporation of dung-derived carbon into soil particle-size fractions. Rapid Commun. Mass Spectrom. 13, 1291-1294. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0231\(19990715\)13:13<1291::AID-RCM637>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0231(19990715)13:13<1291::AID-RCM637>3.0.CO;2-C)
- Balesdent, J., Basile-Doelsch, I., Chadoeuf, J., Cornu, S., Fekiacova, Z., Fontaine, S., Guenet, B., Hatte, C., 2017. Renouvellement du carbone profond des sols cultivés : une estimation par compilation de données isotopiques. Biotechnol. Agron. Société Environ. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 21, 181-190.  
<https://doi.org/10.25518/1780-4507.13562>

- Balesdent, J., Basile-Doelsch, I., Chadoeuf, J., Cornu, S.S., Derrien, D., Fekiacova, Z., Hatté, C., 2018. Atmosphere–soil carbon transfer as a function of soil depth. *Nature* 559, 599–602. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0328-3>
- Balesdent, J., Guillet, B., 1982. Les datations par le  $^{14}\text{C}$  des matières organiques des sols. Contribution à l'étude de l'humification et du renouvellement des substances humiques. *Sci. Sol* 2, 93–112.
- Balesdent, J., Mariotti, A., 1996. Measurement of Soil Organic Matter Turnover Using  $^{13}\text{C}$  Natural Abundance., in: *Mass Spectrometry of Soils*, Marcel Dekker Inc., New York. pp. 83–111.
- Balesdent, J., Mariotti, A., Guillet, B., 1987. Natural  $^{13}\text{C}$  abundance as a tracer for studies of soil organic matter dynamics. *Soil Biol. Biochem.* 19, 25–30. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(87\)90120-9](https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90120-9)
- Basile-Doelsch, I., Amundson, R., Stone, W.E.E., Masiello, C.A., Bottero, J.Y., Colin, F., Masin, F., Borschneck, D., Meunier, J.D., 2005. Mineralogical control of organic carbon dynamics in a volcanic ash soil on La Réunion. *Eur. J. Soil Sci.* 56, 689–703. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2005.00703.x>
- Bernard, L., Basile-Doelsch, I., Derrien, D., Fanin, N., Fontaine, S., Guenet, B., Karimi, B., Marsden, C., Maron, P.-A., 2022. Advancing the mechanistic understanding of the priming effect on soil organic matter mineralisation. *Funct. Ecol.* n/a. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.14038>
- Bol, R., Poirier, N., Balesdent, J., Gleixner, G., 2009. Molecular turnover time of soil organic matter in particle-size fractions of an arable soil. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 23, 2551–2558. <https://doi.org/10.1002/rcm.4124>
- Canadell, J., Jackson, R.B., Ehleringer, J.B., Mooney, H.A., Sala, O.E., Schulze, E.-D., 1996. Maximum rooting depth of vegetation types at the global scale. *Oecologia* 108, 583–595. <https://doi.org/10.1007/BF00329030>
- Cheng, J., Zhang, H., Wang, W., Zhang, Y., Chen, Y., 2011. Changes in Preferential Flow Path Distribution and Its Affecting Factors in Southwest China. *Soil Sci.* 176, 652–660. <https://doi.org/10.1097/SS.0b013e31823554ef>
- Cotrufo, M.F., Ranalli, M.G., Haddix, M.L., Six, J., Lugato, E., 2019. Soil carbon storage informed by particulate and mineral-associated organic matter. *Nat. Geosci.* 12, 989–994. <https://doi.org/10.1038/s41561-019-0484-6>
- Dignac, M.-F., Derrien, D., Barré, P., Barot, S., Cécillon, L., Chenu, C., Chevallier, T., Freschet, G.T., Garnier, P., Guenet, B., Hedde, M., Klumpp, K., Lashermes, G., Maron, P.-A., Nunan, N., Roumet, C., Basile-Doelsch, I., 2017. Increasing soil carbon storage: mechanisms, effects of agricultural practices and proxies. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 37, 14. <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0421-2>
- Du, Y., Cui, B., zhang, Q., Wang, Z., Sun, J., Niu, W., 2020. Effects of manure fertilizer on crop yield and soil properties in China: A meta-analysis. *CATENA* 193, 104617. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2020.104617>
- Edouard Rambaut, L.-A., Vayssières, J., Versini, A., Salgado, P., Lecomte, P., Tillard, E., 2022. 15-year fertilization increased soil organic carbon stock even in systems reputed to be saturated like permanent grassland on andosols. *Geoderma* 425, 116025. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2022.116025>
- Fan, J., Ding, W., Xiang, J., Qin, S., Zhang, J., Ziadi, N., 2014. Carbon sequestration in an intensively cultivated sandy loam soil in the North China Plain as affected by compost and inorganic fertilizer application. *Geoderma* 230–231, 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2014.03.027>

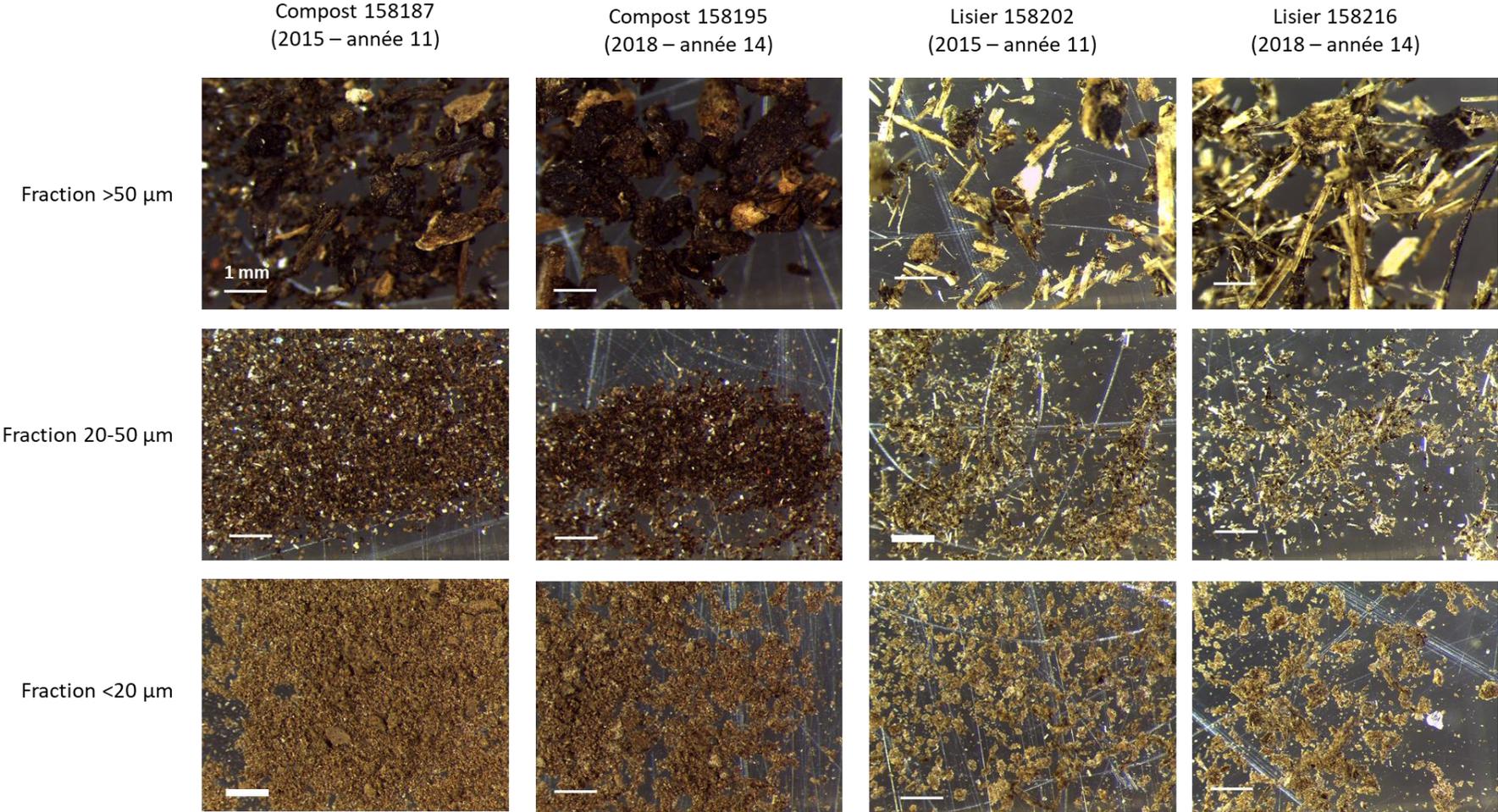
- Feng, W., Shi, Z., Jiang, J., Xia, J., Liang, J., Zhou, J., Luo, Y., 2016. Methodological uncertainty in estimating carbon turnover times of soil fractions. *Soil Biol. Biochem.* 100, 118–124. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.06.003>
- Fontaine, S., Mariotti, A., Abbadie, L., 2003. The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biol. Biochem.* 35, 837–843. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00123-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00123-8)
- Heckman, K., Lawrence, C.R., Harden, J.W., 2018a. A sequential selective dissolution method to quantify storage and stability of organic carbon associated with Al and Fe hydroxide phases. *Geoderma* 312, 24–35. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.09.043>
- Heckman, K., Throckmorton, H., Horwath, W.R., Swanston, C.W., Rasmussen, C., 2018b. Variation in the Molecular Structure and Radiocarbon Abundance of Mineral-Associated Organic Matter across a Lithosequence of Forest Soils. *Soil Syst.* 2, 36. <https://doi.org/10.3390/soilsystems2020036>
- Huang, X., Jia, Z., Guo, J., Li, T., Sun, D., Meng, H., Yu, G., He, X., Ran, W., Zhang, S., Hong, J., Shen, Q., 2019. Ten-year long-term organic fertilization enhances carbon sequestration and calcium-mediated stabilization of aggregate-associated organic carbon in a reclaimed Cambisol. *Geoderma* 355, 113880. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.113880>
- Jamoteau, F., Balesdent, J., Basile-Doelsch, I., Tillard, E., Versini, A., 2021. Can stable isotopes quantify soil carbon build-up from organic fertilizers? *Isotopes Environ. Health Stud.* 1–22. <https://doi.org/10.1080/10256016.2021.1946532>
- Jégou, D., Cluzeau, D., Balesdent, J., Tréhen, P., 1998. Effects of four ecological categories of earthworms on carbon transfer in soil. *Appl. Soil Ecol.* 9, 249–255. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(97\)00057-7](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(97)00057-7)
- Kristiansen, S.M., Hansen, E.M., Jensen, L.S., Christensen, B.T., 2005. Natural <sup>13</sup>C abundance and carbon storage in Danish soils under continuous silage maize. *Eur. J. Agron.* 22, 107–117. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2004.01.002>
- Kuzyakov, Y., Friedel, J.K., Stahr, K., 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1485–1498. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00084-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00084-5)
- Lavallee, J.M., Soong, J.L., Cotrufo, M.F., 2020. Conceptualizing soil organic matter into particulate and mineral-associated forms to address global change in the 21st century. *Glob. Change Biol.* 26, 261–273. <https://doi.org/10.1111/gcb.14859>
- Leroy, B.L.M., Herath, H.M.S.K., Sleutel, S., Neve, S.D., Gabriels, D., Reheul, D., Moens, M., 2008. The quality of exogenous organic matter: short-term effects on soil physical properties and soil organic matter fractions. *Soil Use Manag.* 24, 139–147. <https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2008.00142.x>
- Li, J., Wu, X., Gebremikael, M.T., Wu, H., Cai, D., Wang, B., Li, B., Zhang, J., Li, Y., Xi, J., 2018. Response of soil organic carbon fractions, microbial community composition and carbon mineralization to high-input fertilizer practices under an intensive agricultural system. *PLOS ONE* 13, e0195144. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195144>
- Li, L.-J., Han, X.-Z., 2016. Changes of soil properties and carbon fractions after long-term application of organic amendments in Mollisols. *CATENA* 143, 140–144. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2016.04.007>
- Liang, Q., Chen, H., Gong, Y., Fan, M., Yang, H., Lal, R., Kuzyakov, Y., 2012. Effects of 15 years of manure and inorganic fertilizers on soil organic carbon fractions in a wheat-maize system in the North China Plain. *Nutr. Cycl. Agroecosystems* 92, 21–33. <https://doi.org/10.1007/s10705-011-9469-6>

- Lou, Y., Wang, J., Liang, W., 2011. Impacts of 22-year organic and inorganic N managements on soil organic C fractions in a maize field, northeast China. *CATENA* 87, 386–390. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2011.07.006>
- Lynch, D.H., Voroney, R.P., Warman, P.R., 2006. Use of  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  natural abundance techniques to characterize carbon and nitrogen dynamics in composting and in compost-amended soils. *Soil Biol. Biochem.* 38, 103–114. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.04.022>
- Mathieu, J.A., Hatté, C., Balesdent, J., Parent, É., 2015. Deep soil carbon dynamics are driven more by soil type than by climate: a worldwide meta-analysis of radiocarbon profiles. *Glob. Change Biol.* 21, 4278–4292. <https://doi.org/10.1111/gcb.13012>
- Mehra, O.P., Jackson, M.L., 1958. Iron oxid removal from soils clays by a dithionite-citrate system buffered with sodium bicarbonate., in: Ingerson, E. (Ed.), *Clays and Clay Minerals*. Pergamon, pp. 317–327. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-009235-5.50026-7>
- Mi, W., Wu, L., Brookes, P.C., Liu, Y., Zhang, X., Yang, X., 2016. Changes in soil organic carbon fractions under integrated management systems in a low-productivity paddy soil given different organic amendments and chemical fertilizers. *Soil Tillage Res.* 163, 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.still.2016.05.009>
- Ndour, P.M.S., Hatté, C., Achouak, W., Heulin, T., Cournac, L., 2022. Rhizodeposition efficiency of pearl millet genotypes assessed on a short growing period by carbon isotopes ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\text{F}^{14}\text{C}$ ). *SOIL* 8, 49–57. <https://doi.org/10.5194/soil-8-49-2022>
- Nicolás, C., Hernández, T., García, C., 2017. Type and quantity of organic amendments determine the amount of carbon stabilized in particle-size fractions of a semiarid degraded soil. *Arid Land Res. Manag.* 31, 14–28. <https://doi.org/10.1080/15324982.2016.1195458>
- Palazzolo, E., Laudicina, V.A., Rocuzzo, G., Allegra, M., Torrisi, B., Micalizzi, A., Badalucco, L., 2019. Bioindicators and nutrient availability through whole soil profile under orange groves after long-term different organic fertilizations. *SN Appl. Sci.* 1, 468. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-0479-3>
- Pansu, M., Gautheyrou, J. (Eds.), 2006. *Mineralogical Separation by Selective Dissolution*, in: *Handbook of Soil Analysis: Mineralogical, Organic and Inorganic Methods*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 167–219. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-31211-6\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-540-31211-6_6)
- Rennert, T., 2018. Wet-chemical extractions to characterise pedogenic Al and Fe species – a critical review. *Soil Res.* 57, 1–16. <https://doi.org/10.1071/SR18299>
- Shimada, H., Wagai, R., Inoue, Y., Tamura, K., Asano, M., 2022. Millennium timescale carbon stability in an Andisol: How persistent are organo-metal complexes? *Geoderma* 417, 115820. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2022.115820>
- Shuster, W.D., Subler, S., McCoy, E.L., 2002. The influence of earthworm community structure on the distribution and movement of solutes in a chisel-tilled soil. *Appl. Soil Ecol.* 21, 159–167. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(02\)00063-X](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(02)00063-X)
- Sleutel, S., Neve, S.D., Németh, T., Tóth, T., Hofman, G., 2006. Effect of manure and fertilizer application on the distribution of organic carbon in different soil fractions in long-term field experiments. *Eur. J. Agron.* 25, 280–288. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2006.06.005>
- Tamm, O., 1922. Eine Methode zur Bestimmung der anorganischen Komponenten des Gelkomplexes im Boden. *Medd. Fran Statens Skogsforsoksanstalt* 19, 385–404.
- Tang, H., Li, C., Xiao, X., Pan, X., Cheng, K., Shi, L., Li, W., Wen, L., Wang, K., 2020. Effects of long-term fertiliser regime on soil organic carbon and its labile fractions under

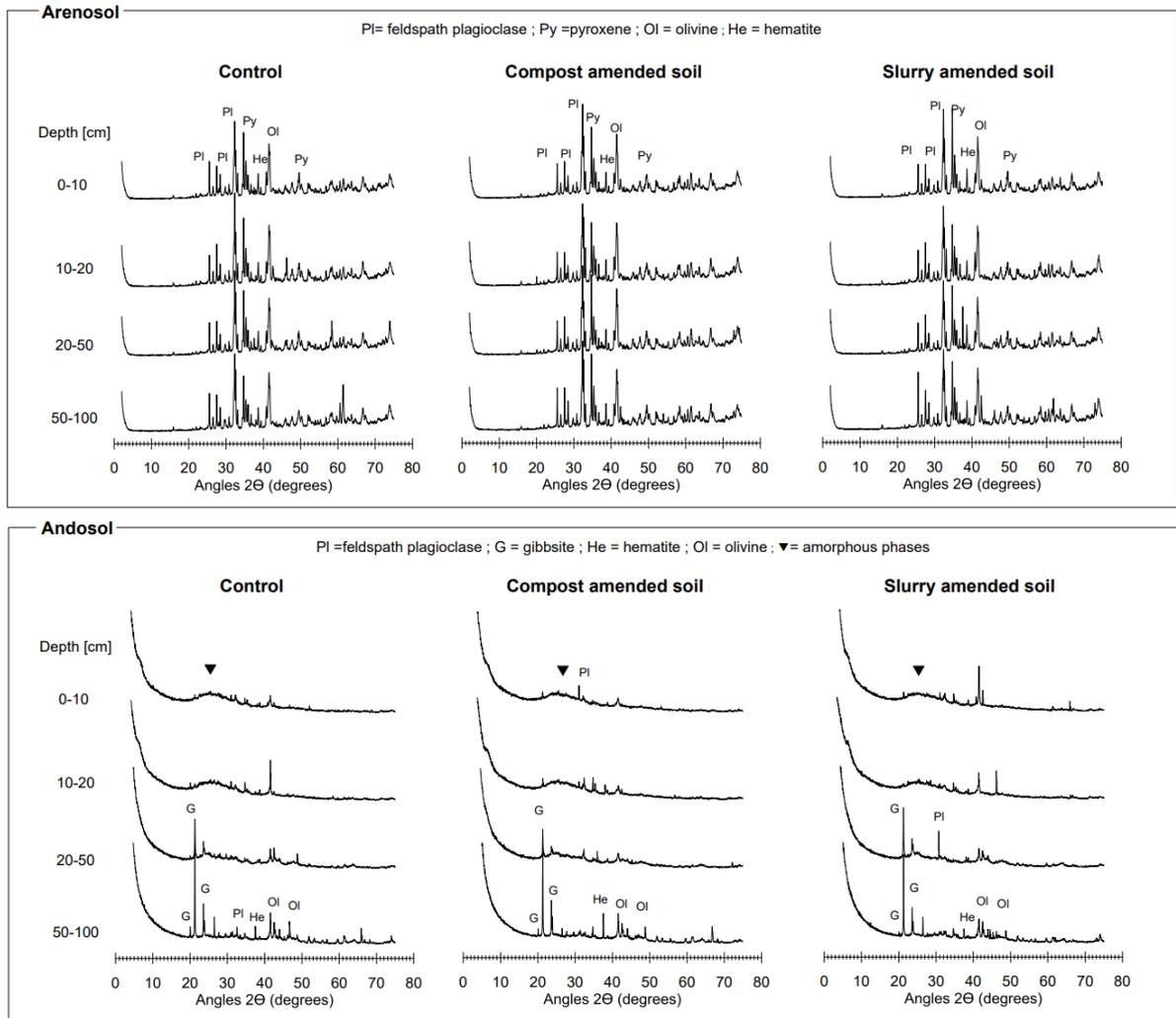
- double cropping rice system of southern China. *Acta Agric. Scand. Sect. B — Soil Plant Sci.* 70, 409–418. <https://doi.org/10.1080/09064710.2020.1758763>
- Trumbore, S., 2009. Radiocarbon and Soil Carbon Dynamics. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* 37, 47–66. <https://doi.org/10.1146/annurev.earth.36.031207.124300>
- Trumbore, S.E., 1993. Comparison of carbon dynamics in tropical and temperate soils using radiocarbon measurements. *Glob. Biogeochem. Cycles* 7, 275–290. <https://doi.org/10.1029/93GB00468>
- Trumbore, S.E., Vogel, J.S., Southon, J.R., 1989. AMS <sup>14</sup>C Measurements of Fractionated Soil Organic Matter: An Approach to Deciphering the Soil Carbon Cycle. *Radiocarbon* 31, 644–654. <https://doi.org/10.1017/S0033822200012248>
- Wen, Y., Liu, W., Deng, W., He, X., Yu, G., 2019. Impact of agricultural fertilization practices on organo-mineral associations in four long-term field experiments: Implications for soil C sequestration. *Sci. Total Environ.* 651, 591–600. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.233>
- Wen, Y.-L., Guo, X.-Y., Cheng, L., Yu, G.-H., Xiao, J., He, X.-H., Goodman, B.A., 2021. Organic amendments stimulate co-precipitation of ferrihydrite and dissolved organic matter in soils. *Geoderma* 402, 115352. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2021.115352>
- Wu, W., Jj, S., F, L., P, Q., Ss, M., Y, S., 2005. Influence of fertilization and organic amendments on organic-carbon fractions in Heilu soil on the loess plateau of China. *Z. Für Pflanzenernähr. Bodenkd.* 168, 100–107. <https://doi.org/10.1002/jpln.200321295>
- Xu, H., Liu, K., Zhang, W., Rui, Y., Zhang, J., Wu, L., Colinet, G., Huang, Q., Chen, X., Xu, M., 2020. Long-term fertilization and intensive cropping enhance carbon and nitrogen accumulated in soil clay-sized particles of red soil in South China. *J. Soils Sediments* 20, 1824–1833. <https://doi.org/10.1007/s11368-019-02544-8>
- Yu, G.-H., Liu, S., 2022. Visualizing Mineral-Associated Organic Matters in Long-Term Fertilization Treated Soils by NanoSIMS and SR-FTIR. *Front. Soil Sci.* 2.
- Zieger, A., Kaiser, K., Ríos Guayasamín, P., Kaupenjohann, M., 2018. Massive carbon addition to an organic-rich Andosol increased the subsoil but not the topsoil carbon stock. *Biogeosciences* 15, 2743–2760. <https://doi.org/10.5194/bg-15-2743-2018>

## **3.15. Annexes**

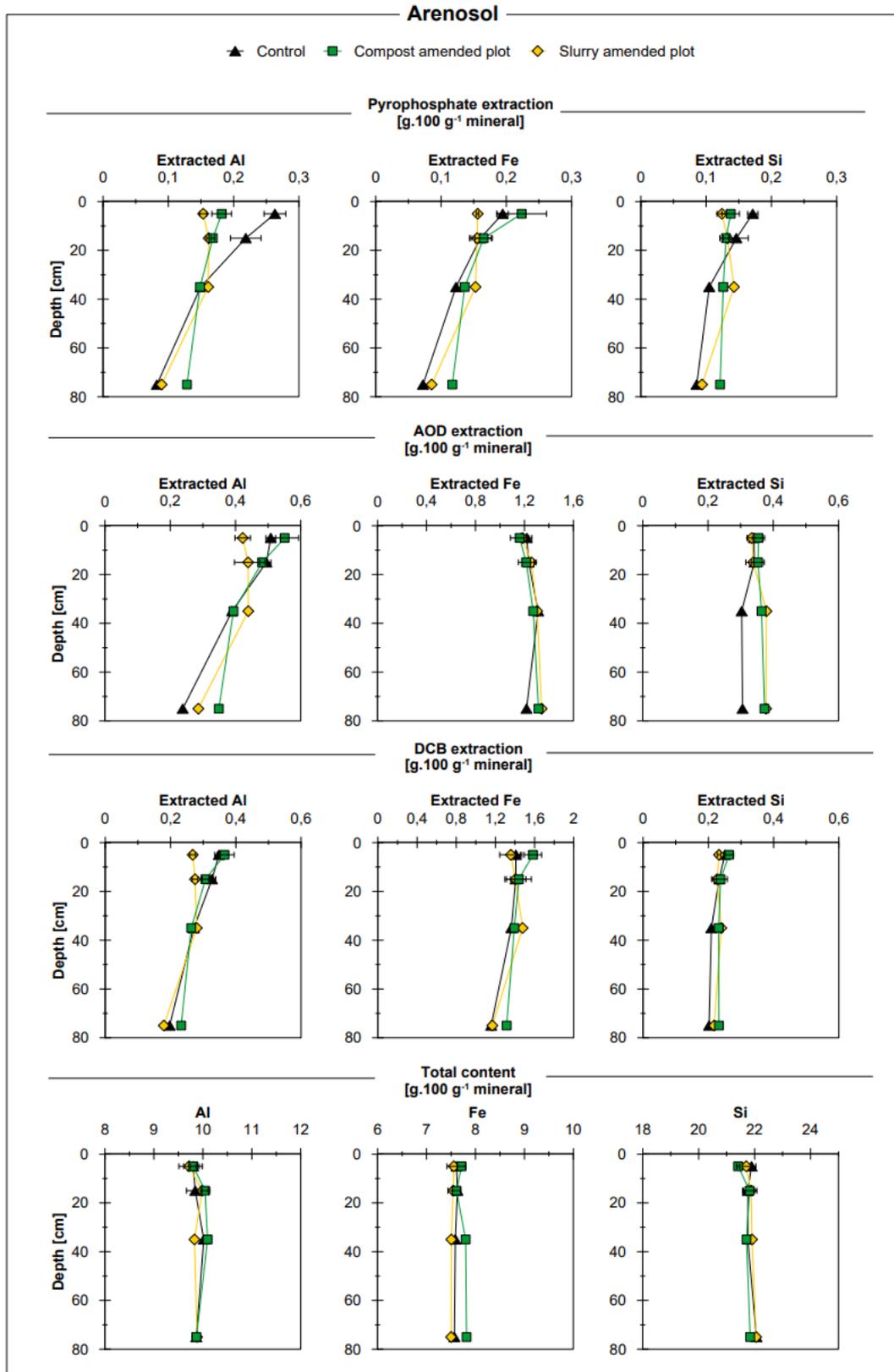
**Annexe 1. Photographies des fractions granulométriques du lisier et du compost avec une loupe binoculaire. Photographies des fractions séchées à 30°C.**



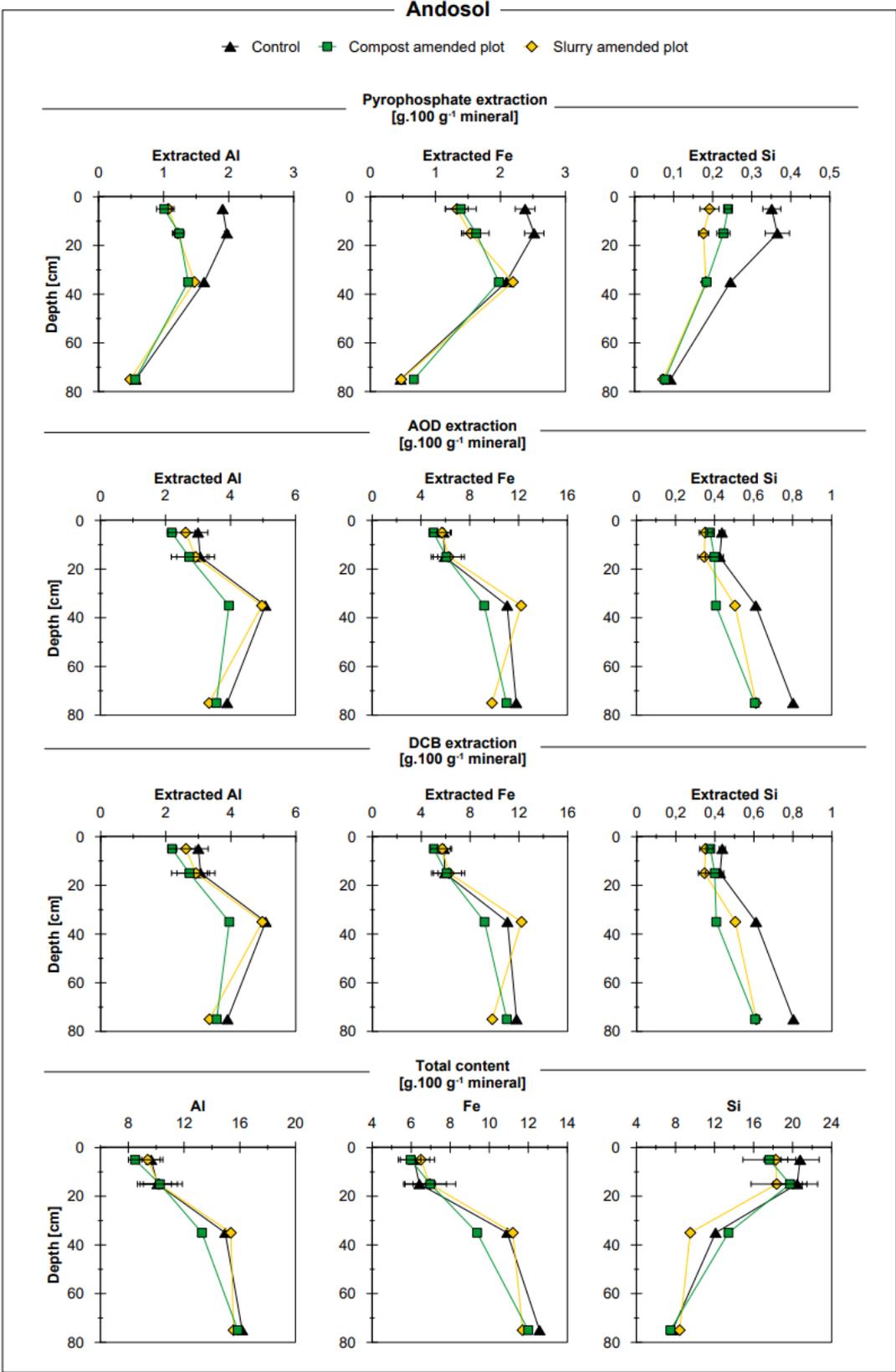
**Annexe 2. Minéralogie par DRX de l'Arénosol et de l'Andosol.** Pour les horizons 0-10 et 10-20 cm, seul le bloc 1 est analysé. Les diffractogrammes de l'Arénosol ont des pics attribués à des feldspath plagioclases (Pl), pyroxènes (Py), olivines (Ol) et hématis (He, Annexe 2). Les diffractogrammes de l'Andosol ont des pics attribués à des feldspath plagioclases, olivines, gibbsites et hématis ainsi que des bandes de diffusions attribuées à des phases mal-cristallisées. La minéralogie des sols ne varie pas selon les traitements.



**Annexe 3. Concentration totale en Al, Fe et Si et quantités d'Al, de Fe et de Si extraits par DCB, AOD et pyrophosphates de l'Arénosol.** La barre d'erreur des horizons 0-10 et 10-20 cm est l'écart-type de 3 répétitions agronomiques.



**Annexe 3. Suite. Concentration totale en Al, Fe et Si et quantités d'Al, de Fe et de Si extraits par DCB, AOD et pyrophosphates de l'Andosol. La barre d'erreur des horizons 0-10 et 10-20 cm est l'écart-type de 3 répétitions agronomiques.**

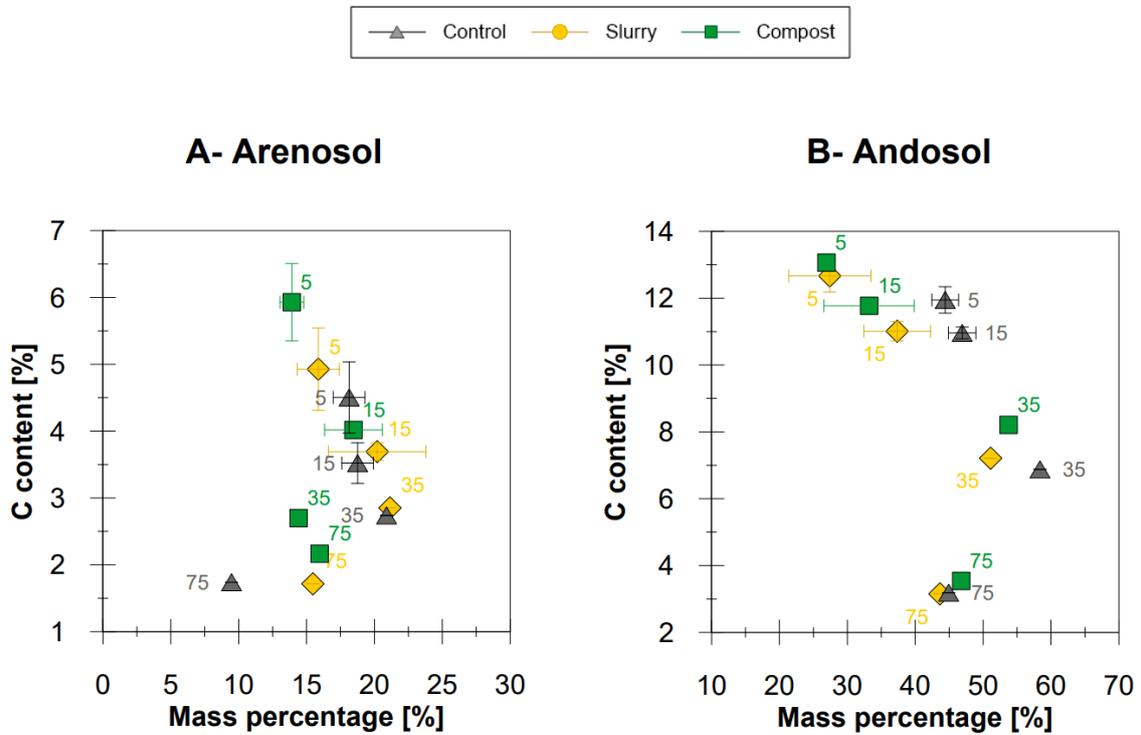


#### Annexe 4. Calcul de recouvrement des mesures de $\delta^{13}\text{C}$ des sols fractionnés.

Le Gap correspond à la différence entre la moyenne pondérée de la signature isotopique des 3 fractions de sol et la signature isotopique mesurée sur le sol bulk. Pour rappel, pour l'Arénosol, le  $\delta^{13}\text{C}$  moyen du compost est de  $-20.6 \pm 2.2$  ‰ et du lisier  $-23.6 \pm 2.8$  ‰. Pour rappel, pour l'Andosol, le  $\delta^{13}\text{C}$  moyen du compost est de  $-20.7 \pm 2.1$  ‰.

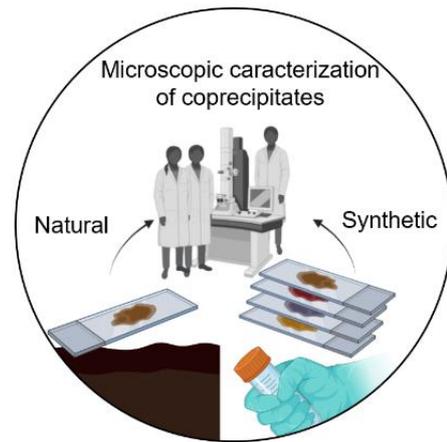
Agronomic block's sample	Depth [cm]	Amendment type	Arenosol			Andosol		
			$\delta^{13}\text{C}$ of bulk soils [‰]	weighted mean $\delta^{13}\text{C}$ of the fractions [‰]	Gap [‰]	$\delta^{13}\text{C}$ of bulk soils [‰]	weighted mean $\delta^{13}\text{C}$ of the fractions [‰]	Gap [‰]
Block 1	0-10	Control	-16,5	-16,8	0,3	-24,9	-25,2	0,3
Block 2	0-10	Control	-15,7	-15,8	0,0	-24,8	-24,9	0,1
Block 3	0-10	Control	-15,7	-15,6	-0,1	-24,3	-24,4	0,1
Block 1	10-20	Control	-17,4	-17,5	0,0	-24,6	-24,7	0,1
Block 2	10-20	Control	-16,3	-16,5	0,2	-24,4	-24,6	0,2
Block 3	10-20	Control	-16,2	-16,1	-0,1	-24,0	-24,1	0,1
Composite of 1, 2 and 3	20-50	Control	-16,9	-16,9	0,0	-23,3	-23,4	0,1
Composite of 1, 2 and 3	50-100	Control	-17,0	-17,2	0,1	-23,3	-22,6	-0,7
Block 1	0-10	Compost	-18,7	-18,5	-0,2	-23,1	-23,3	0,2
Block 2	0-10	Compost	-19,2	-18,7	-0,5	-22,8	-23,0	0,2
Block 3	0-10	Compost	-18,5	-18,6	0,1	-22,5	-22,8	0,2
Block 1	10-20	Compost	-18,3	-18,6	0,3	-23,6	-23,5	-0,1
Block 2	10-20	Compost	-18,1	-18,3	0,2	-23,1	-23,4	0,3
Block 3	10-20	Compost	-18,2	-17,9	-0,3	-22,9	-22,8	-0,1
Composite of 1, 2 and 3	20-50	Compost	-17,8	-17,9	0,1	-23,2	-23,3	0,0
Composite of 1, 2 and 3	50-100	Compost	-17,5	-18,1	0,6	-22,5	-22,6	0,2
Block 1	0-10	Slurry	-18,8	-18,8	0,0	-24,8	-24,7	-0,1
Block 2	0-10	Slurry	-18,8	-18,9	0,0	-24,5	-24,5	0,0
Block 3	0-10	Slurry	-18,1	-18,6	0,5	-24,7	-24,8	0,1
Block 1	10-20	Slurry	-18,8	-19,0	0,2	-24,5	-24,5	0,1
Block 2	10-20	Slurry	-18,7	-18,7	0,0	-24,5	-24,5	0,0
Block 3	10-20	Slurry	-18,2	-18,3	0,0	-24,0	-24,1	0,1
Composite of 1, 2 and 3	20-50	Slurry	-17,9	-18,1	0,1	-23,3	-23,4	0,1
Composite of 1, 2 and 3	50-100	Slurry	-17,7	-18,3	0,6	-22,3	-22,7	0,3

**Annexe 5. Concentration en C en fonction du pourcentage massique de la fraction <math><20 \mu\text{m}</math> de l'Arénosol et de l'Andosol.** Les étiquettes correspondent à la profondeur moyenne des horizons d'échantillonnages (0-10, 10-20, 20-50 et 50-100 cm, soit 5, 15, 35, 75 cm). La barre d'erreur est l'écart type des 3 blocs pour les horizons 0-10 cm et 10-20 cm.





## 4. Chapitre 4 : Caractérisation de coprécipités aux nano- échelles

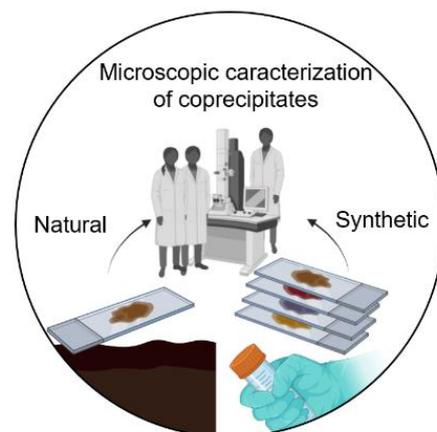


*Le premier sous chapitre se focalise sur l'étude aux nano-échelles de coprécipités naturels d'andosols ainsi que sur l'interaction de ces coprécipités avec les nano-phases du sol. Les analyses sont effectuées sur des fractions fines d'andosol en forêt et cultivé afin de d'étudier si la mise en culture à induit une modification des nano-phases présentes, dont les coprécipités.*

*Le second sous-chapitre se focalise sur l'étude de la spéciation du C afin de comprendre la nature des interactions entre les éléments inorganiques et organiques dans les coprécipités. Les analyses sont effectuées sur les mêmes coprécipités issus d'andosols et sur des références de laboratoire.*



## 4A. Caractérisation de coprecipités naturels aux nano-échelles : cas d'un andosol en forêt et cultivé



Les personnes impliquées ainsi que leurs contributions respectives à ce sous-chapitre de thèse sont listées ci-dessous. **Floriane Jamoteau** a effectué la préparation d'échantillons, l'acquisition des données, le traitement des données ainsi que l'interprétation et la rédaction de ce chapitre. **Isabelle Basile-Doelsch** est à l'initiative de l'étude, a contribué aux discussions sur l'interprétation des images et à la rédaction de ce chapitre. **Nithavong Cam** a participé à la préparation des échantillons, au développement méthodologique et à l'acquisition des données. **Clément Levard** a participé à l'acquisition, à l'interprétation des données et à la rédaction de ce chapitre. **Emmanuel Doelsch** a participé à l'acquisition et à l'interprétation des données. **Adrien Duvivier** a participé à la préparation d'échantillon et **Daniel Borschnek** aux mesures de caractérisation minéralogique. **Thierry Woignier** et **Luc Rangon** ont prélevé et envoyé les échantillons (IMBE-La Martinique). **Adrien Boulais**, **Romain Soulas** et **François Saint-Antonin** ont permis et participé à l'acquisition des données ainsi qu'au traitement de données (Minatec, CEA, Grenoble).

En plus du financement de cette thèse par le **CIRAD** et la **Région SUD**, ces résultats ont été financés par l'**ANR nanoSoilC** porté par Isabelle Basile-Doelsch. L'accès à la plateforme Minatec a été possible via le partenariat du **labex nanoID** dont la collaboration CEREGE a été portée par Jérôme Rose.

## 4.1. Introduction

L'association entre les matières organiques et minérales est un processus majeur de la stabilisation du C des sols (Schmidt et al., 2011; Lehmann and Kleber, 2015; Basile-Doelsch et al., 2020). Cette association a lieu principalement dans les fractions fines des sols et les matières organiques associées aux minéraux sont appelées MAOM (*mineral associated organic matter*; Cotrufo et al., 2019; Lavallee et al., 2020). Les mécanismes de formation de MAOM peuvent être divers (e.g. adsorption, coprécipitation, complexation ; Basile-Doelsch et al., 2020). Le mécanisme de coprécipitation semble être un mécanisme prépondérant dans la stabilisation du C des sols à pH neutre à acide (Rasmussen et al., 2018). Ainsi, la coprécipitation pourrait avoir une importance dans le cycle du C des sols. Les coprécipités des sols sont conceptualisés suivant la taille de la phase minérale avec laquelle la MO est en interaction : de l'échelle micrométrique (Kleber et al., 2015) jusqu'à l'échelle nanométrique (avec des éléments issus de l'altération minérale qui ne sont plus que de simples oligomères inorganiques associés à des molécules organiques, appelée nanoCLICs ; Tamrat et al., 2019).

Les colocalisations élémentaires entre du C, de Al et/ou du Fe aux micro-échelles sont nombreuses dans les sols (Solomon et al., 2012; Chunmei Chen et al., 2014; Arachchige et al., 2018; Possinger et al., 2020a; Inagaki et al., 2020). Ces études montrent l'association de ces éléments mais ne permettent pas de caractériser les mécanismes qui les lient. Certaines analyses de microscopie électronique en transmission (MET) ont permis de caractériser si ces associations élémentaires comportent, en partie, un réseau cristallin détectable par diffraction électronique ou si ces associations sont amorphes aux électrons (Chenu and Plante, 2006 ; Wen et al., 2014 ; Asano et al., 2018). Par titration de MO dissoutes (et d'autres d'éléments inorganiques potentiellement complexés) extraits de sols avec de l'Al, Wen et al., (2014) ont montré la présence de nano-phases contenant (i) du C avec de l'Al et du Si dans une phase amorphe aux électrons et (ii) de C avec du Fe (et un peu d'Al et de Si) dans une phase cristalline aux électrons. La présence de C, Al et Si dans une phase amorphe aux électrons est aussi remarquée aussi un luvisol (Chenu and Plante, 2006). De plus, la présence de C et de Fe dans une phase amorphe aux électrons est remarquée dans un andosol (Asano et al., 2018). Ainsi, quelques observations de colocalisations élémentaires dans une phase amorphe aux électrons tendent à démontrer la présence de coprécipités dans certains sols. Cependant l'importance de ces coprécipités dans les sols et la nature des associations élémentaires sont mal-connues.

Les andosols sont des sols très riches en C sous forme de MAOM (Basile-Doelsch et al., 2005; Basile-Doelsch et al., 2007). Ils font l'objet d'une caractérisation depuis de nombreuses années. Ces andosols sont développés sur roches volcaniques facilement altérables, comportant beaucoup de phases secondaires qualifiées de *imogolite type material* (ITM; Figure 1; Parfitt et al., 1999; Basile-Doelsch et al., 2005; Basile-Doelsch et al., 2007; Levard et al., 2012). Ces ITM sont impliqués dans la stabilisation du C (Basile-Doelsch et al., 2005; Basile-Doelsch et al., 2007; Levard et al., 2012) mais aussi dans la

structuration des agrégats (Asano et al., 2018 ; Wagai et al., 2020). Ces ITM ont en commun une structure locale, composée d'Al et de Si avec une configuration typique du Si en  $Q_0$  (tétraèdres de Si isolés ; Figure 1, Levard et al., 2012). Ces ITM peuvent prendre la forme d'imogolites ou d'allophanes ou leurs précurseurs appelés proto-imogolites (Parfitt et al., 1999; Basile-Doelsch et al., 2005; Basile-Doelsch et al., 2007; Levard et al., 2012). Les imogolites ont depuis longtemps été décrites dans des échantillons de ponces altérées pauvres en MO (Wada and Harward, 1974; Parfitt et al., 1980). En revanche, les andosols ne comportent pas en majorité des imogolites ou allophanes, mais leurs précurseurs : des proto-imogolites (Basile-Doelsch et al., 2005; Chevallier et al., 2008; Levard et al., 2012). Cette présence de proto-imogolites est expliquée par l'effet inhibiteur des MO sur leur croissance (Levard et al., 2012; Lenhardt et al., 2022). Ces observations ont conduit à conceptualiser des coprécipités de MO avec des proto-imogolites dans les andosols (Levard et al., 2012). Cependant, ces observations ne permettent pas de savoir si ces ITM sont des structures qui composent majoritairement les coprécipités d'andosols ou bien si les coprécipités se composent d'autres types de nano-phases avec des structures et compositions chimiques variables de type nanoCLICs.

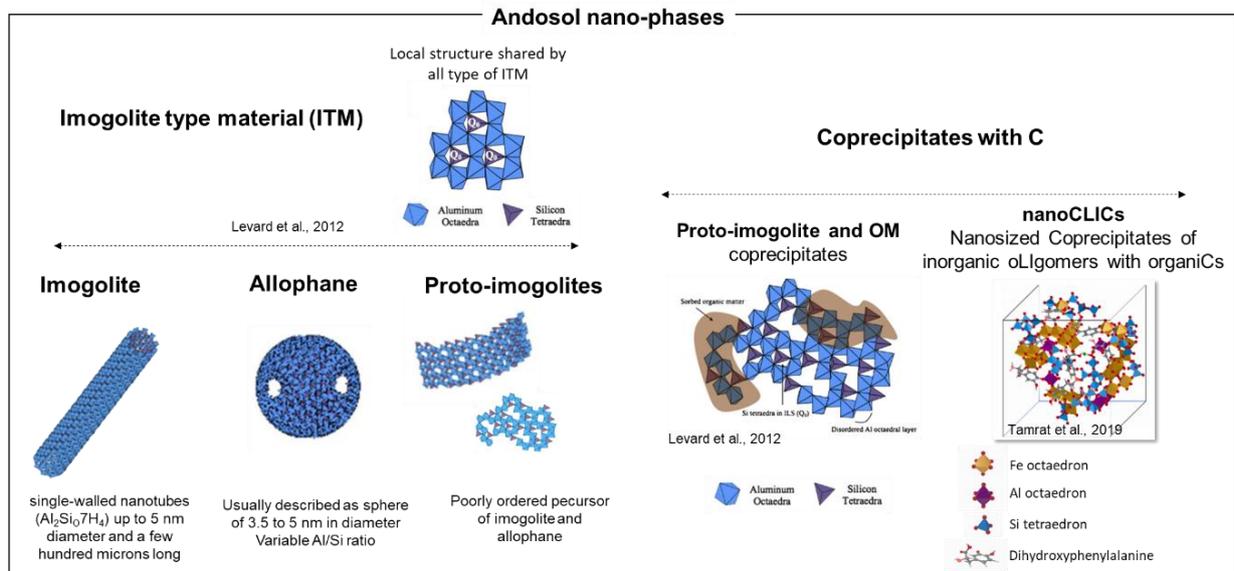


Figure 1. Représentation des nano-phases potentiellement présentes dans les andosols, d'après les publications de Levard et al. (2012) et Tamrat et al. (2019).

Le Chapitre 2 de cette thèse tend à montrer statistiquement que les MO ne sont pas coprécipités avec des ITM mais plutôt avec des éléments inorganiques amorphes, sous forme de nanoCLICs. Malgré ces analyses statistiques, l'interaction et les différences entre ITM et nanoCLICs ne sont pas directement analysées. Dans ce même chapitre de thèse, la mise en culture semble déstructurer les nanoCLICs. Cependant les formes de MAOM restantes sont inconnues.

Ainsi, l'objectif de ce sous-chapitre est d'analyser, de l'échelle micro- à l'échelle nanométrique l'organisation (composition et structure) des nano-phases d'andosol. Un second objectif est de comparer cette organisation dans des fractions fines d'andosol en

forêt et cultivé, afin de mettre en évidence de potentiels impacts de la mise en culture sur ces nano-phases.

Pour cela des fractions fines de l'andosol en forêt et cultivé sont analysées par microscopie électronique en transmission (MET) afin d'observer les phases présentes dans le sol. Ensuite, des cartographies élémentaires sont réalisées par STEM-EDX pour localiser le C et les éléments associés de l'échelle micrométrique à centi-nanométrique. Ensuite, des cartographies par STEM-EELS sont réalisées afin d'acquérir des distributions élémentaires avec une meilleure résolution spatiale que par STEM-EDX (de l'ordre de 10 nm ; détails des différences techniques en méthode).

## **4.2. Matériels et méthodes**

### **4.2.1. Échantillonnage**

L'échantillonnage de l'andosol en forêt et en culture est décrit en section 2.2.1 de cette thèse. Dans le présent sous-chapitre, seuls les horizons 10-15 et 15-20 cm sont utilisés.

### **4.2.2. Fractionnement des sols**

Afin d'isoler la phase de gel qui concentre les MAOM et qui participe à la structuration des agrégats, tel qu'observé par Inagaki et al., 2019 et Wagai et al., 2020, nous avons isolé le gel formé après sédimentation. Comparé au tamisage humide effectué en Chapitre 2, échantillonner le gel après sédimentation permet de caractériser ce qui participe à la structuration des agrégats des andosols (e.g. le ciment). Ce gel a été échantillonné après 1h ou 24h de sédimentation. Ces deux protocoles sont détaillés ci-dessous :

- La fraction « 1h-fraction » est isolée comme suit : 2g de sol humide (horizon 10-15 cm) sont ajoutés à 35 mL d'eau milliQ puis sonifiée. Après 1h de décantation, un surnageant marron gélifié est prélevé (au-dessus de 0.5 cm). La fraction décantée est appelée « heavy 1 ». Afin d'éliminer le plus possible les fractions plus grossières, le surnageant est décanté une seconde fois : ajustement du volume à 35 mL avec de l'eau milliQ puis décantation dans les mêmes conditions pendant 1h. Ce second gel marron surnageant est appelé « 1h-fraction » et le culot « heavy 2 ».
- La fraction « 48h-fraction » est isolée comme suit : 2g de sol humide (horizon 15-20 cm) sont ajoutés à 100 mL d'eau milliQ puis sonifié. Après 48h de décantation, un surnageant marron gélifié (au-dessus de 0.5 cm) est isolé et nommé « 48h-fraction ».

Dû à la réagrégation des fractions fines des andosols (Inagaki et al., 2019), aucun calcul de taille de particule suivant les protocoles de sédimentation n'a été appliqué. Environ 100 µL des fractions 48h-fraction et 1h-fraction ont été prélevés et conservés à 4°C pour les analyses en microscopie, le reste des fractions a été séché à 40°C. Ces fractionnements ont été effectués la veille des analyses de microscopie.

### 4.2.3. Minéralogie et dosage C des fractions de sols

La minéralogie des fractions “heavy 1”, “heavy 2” et “1h-fraction” a été analysé sur les échantillons secs par diffraction des rayons X (Philips P3710 X-ray diffractometer, Co-K $\alpha$  radiation à 40 mA ;  $\lambda = 1.79 \text{ \AA}$ ). Les analyses sont faites sur un support en silicium et les diffractogrammes sont enregistrés entre  $2\theta$  de 2-75° avec un pas de 0.033° et un temps de comptage de 206s/pas.

Les dosages de C des fractions “heavy 1”, “heavy 2” et “1h-fraction” sont analysés par combustion sèche (FlashSmart analyzer, NF ISO 10694) avec 3 répétitions analytiques.

### 4.2.4. Imagerie et distribution spatiale des éléments par TEM, STEM-EDX et STEM-EELS

Les fractions « 48h-fraction » et « 1h-fraction » ont été diluées avec de l'eau milliQ (1/100) et 5 à 7  $\mu\text{L}$  ont été déposés sur des grilles en cuivre recouvert d'un film carbone de type lacey (film poreux). Les grilles ont été séchées à l'air avant analyse en microscopie. Le sol en forêt a été analysé en microscopie sur la fraction « 48h-fraction » et « 1h-fraction ». Pour le sol en culture, seule la fraction « 48h-fraction » a été analysée en microscopie.

Les analyses ont été effectuées au laboratoire MINATEC (CEA Grenoble) avec un microscope électronique en transmission (TEM) FEI Tecnai Osiris (Thermo Fisher Scientific) à 200 kV couplé avec un système de détection EDX (*Energy-Dispersive X-ray spectroscopy ; Super-X EDS detector system*) et EELS (*Electron Energy Loss Spectroscopy ; GIF Quantum Gatan*). L'imagerie est effectuée en champ clair (*bright field ; faisceau direct*) et en champ sombre (*annular dark field et high angular dark field ; faisceau diffracté*).

Les cartographies chimiques sont effectuées par STEM-EDX et STEM-EELS. Le mode STEM (*scanning transmission electron microscope*) consiste à focaliser la sonde électronique (jusqu'à une taille de 10-1  $\text{\AA}$ ) et balayer l'échantillon. Une courte description des techniques EDX et EELS est faite ci-dessous<sup>6</sup> :

- La technique EDX consiste à analyser la distribution de rayon X émis par les atomes de l'échantillon (signal de fluorescence X), lorsque celui-ci est sous un faisceau électronique. Les atomes sont excités par le faisceau électronique et un rayon X est produit lors de la désexcitation. Ce rayonnement X est caractéristique de l'atome excité, permettant l'identification chimique de l'atome. La résolution spatiale des cartographies EDX est limitée car les rayons X émis par l'échantillon peuvent réexciter les atomes voisins. Aussi d'autres rayonnements X parasites, peuvent provenir de la diffusion des électrons secondaires dans l'échantillon et de l'équipement (dans ce contexte les grilles de Cu). Ainsi les rayons X acquis proviennent d'une zone plus large que le faisceau électronique incident, une zone appelée 'poire d'interaction'. Pour

---

<sup>6</sup> Issu, en partie, des cours de Raul Arenal et de Eric Leroy dispensé lors que la formation CNRS « aspect fondamentaux de la microscopie électronique en transmission », Institut de Chimie et des Matériaux, 2019

conclure, l'EDX à l'avantage de couvrir une large gamme de détection en énergie et donc une large détection de nature d'atomes. Mais cette technique présente le désavantage d'une faible résolution spatiale difficilement estimable.

- La technique EELS analyse la perte en énergie du faisceau électronique qui a traversé l'échantillon. Brièvement, l'échantillon est exposé à un faisceau électronique ayant une gamme d'énergie connue. Lorsque l'énergie reçue est supérieure à l'énergie d'ionisation de l'atome, une diffusion inélastique ce produit induisant une perte en énergie. Cette énergie d'ionisation est fonction d'un atome spécifique et permet son identification. Les seuils théoriques du C, Fe, Al et Si sont respectivement à 284, 708, 1560 et 1839 eV par exemple. Ainsi l'EELS permet une résolution spatiale très fine (nanométrique) par l'analyse du faisceau transmis. De plus la spéciation élémentaire est analysable suivant cette technique (non-exploitée dans cette thèse). Cependant, l'EELS présente le désavantage de mesures sur des gammes d'énergies réduites (jusqu'à 2000 eV avec l'appareil utilisé) et l'acquisition est en partie destructive pour les matériaux fragiles. Réduire le temps d'analyse permet de réduire les effets de destruction (Libera and Egerton, 2010).

Les données de cartographie chimique par EDX sont analysées avec le logiciel *Esprit* version 1.9. Les proportions atomiques sont calculées suivant l'algorithme *interactive PB-ZAF*. Les cartographies STEM-EDX ont permis d'acquérir des cartographies chimiques de zones micrométriques. De plus cette technique permet de détecter une large gamme d'atomes présents dans l'échantillon.

Puis, des cartographies chimiques aux échelles nanométriques sont faites par EELS. Le temps d'analyse par pixel est réduit autant que possible pour réduire les dommages dus au faisceau, tout en assurant une détection élémentaire aux échelles souhaitées. Les pertes de 250 à 1224 eV sont acquises en premier avec un temps d'analyse par pixel de 0.05 à 0.09 s. Puis les pertes sont acquises de 1050 à 2074 eV avec un temps d'analyse de 0.9 à 1.5 s par pixel. Durant l'acquisition, le pixel d'acquisition est balayé (*sub-pixel scanning*). Suite à ce temps d'analyse faible, les signaux EELS obtenus sont assez bruités. L'interprétation des données est faite dans un but de détection élémentaire spatialement résolue (e.g. *extracted core loss* signal). La spéciation n'est pas interprétable aux échelles d'analyses souhaitées (le signal est bruité et une potentielle modification de la spéciation sous faisceau est suspectée). Les données EELS sont analysées avec le logiciel *Digital Micrograph* (version 2.32.888.0). L'intégration des seuils pour la cartographie élémentaire est faite comme suit : (i) pour le C, le bruit de fond est interpolé sur la gamme d'énergie 253-278 eV et le seuil K et le signal après seuil sur la gamme 280-305 eV ; (ii) pour le Fe le bruit de fond est interpolé sur la gamme d'énergie 628-690 eV et le seuil L et le signal après seuil sur la gamme 693-754.5 eV ; (iv) pour l'Al le bruit de fond est interpolé sur la gamme d'énergie 1432-1532 eV et le seuil K et le signal après seuil sur la gamme 1545-1673.5 eV ; pour le Si le bruit de fond est interpolé sur la gamme d'énergie 1654-1815 eV et le seuil K et le signal après seuil sur la gamme 1829-1969 eV.

## 4.3. Résultats

### 4.3.1. Caractérisation des fractions isolées (dosage C et minéralogie par DRX)

Les différentes fractions « heavy 1 », « heavy 2 » et « 1h-fraction » issues du protocole de séparation (i), ont des différences de concentration en C (Figure 2). Pour le sol en forêt comme pour le sol cultivé, les concentrations sont croissantes, suivant l'ordre suivant : heavy 1 < heavy 2 < 1h-fraction. Les fractions '1h-fraction' comportent 67 % du C du sol en forêt et 75 % de C du sol cultivé.

L'analyse de la minéralogie, par DRX, est assez similaire entre les deux sols mais varie suivant les fractions de sols (Figure 2). Pour les deux sols, les minéraux primaires sont composés de plagioclase (andésine/anorthite), quartz, tridymite, titanomagnétite et orthopyroxène. Les minéraux secondaires sont composés de gibbsite et les diffractogrammes comportent des bandes de diffusion larges (centrées autour de 7, 30 et 45°) issues de phases mal cristallisées ou amorphes. Les diffractogrammes des fractions heavy 1 ont des pics de diffraction très intenses. Les diffractogrammes des fractions heavy 2 ont des pics de diffraction intenses et des bandes de diffusion. Comparés aux autres fractions, les diffractogrammes des fractions '1h-fractions' ont des pics de diffraction moins intenses et des bandes de diffusion plus intenses. Ces fractions pourraient concentrer des phases mal cristallisées ou amorphes.

Ainsi, les fractions '1h-fraction' de l'andosol en forêt et cultivé comportent une grande partie du C du sol *bulk* et semble concentrer des phases mal-cristallisées ou amorphes par DRX.

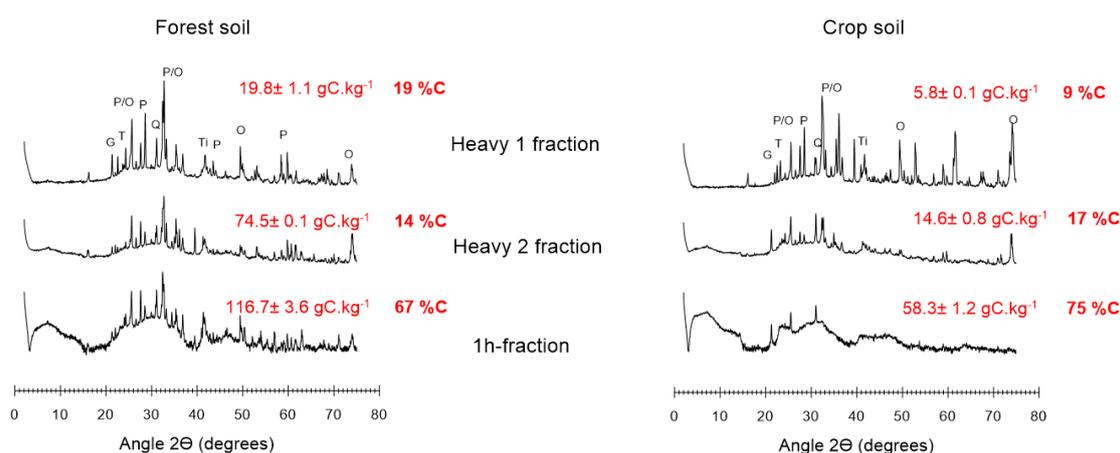


Figure 2. Analyse de la minéralogie par DRX, dosage de C et proportion du C dans les fractions du sol en forêt et cultivé. Fractionnement suivant le protocole de sédimentation de 1h. Écart-type de 3 répétitions analytiques du dosage C. Diffractogrammes en échelle linéaire. Les pics sont attribués à la gibbsite (G), quartz (Q), plagioclase (andésine/anorthite) (P), orthopyroxène (O), titanomagnétite (Ti). De larges bandes de diffusion centrées autour de 7 et 30 et 45° sont associées à des phases mal-cristallisées ou amorphes.

## 4.3.2. Imagerie et distribution spatiale des éléments par cartographies chimiques

### 4.3.2.1. Analyses des fractions fines du sol en forêt

#### *Imagerie des fractions fines*

Dans un premier temps, de l'imagerie par MET a permis observer la morphologie des fractions fines de l'andosol en forêt (Figure 3). Toutes les images acquises par MET sont accessibles en Annexe 1. A l'échelle du micromètre, ces fractions fines sont composées majoritairement d'une phase de gel<sup>7</sup> (FigureA-C). Quelques minéraux de 2 à 5 µm sont détectés mais ils sont minoritaires dans nos observations. La section de résultat 4.3.2.3 leur est dédiée.

A l'échelle nanométrique, cette phase de gel est majoritairement amorphe aux électrons (par transformée de Fourier (FFT) de l'image HRTEM en FigureD) mais dans certaines zones, quelques plans cristallins sont remarqués au sein de la phase (FigureE). D'autres structures fibreuses sont observées (Figure-B, C et F). Ces objets ne sont pas cristallins (par FFT), possiblement à cause de leur fragilité sous faisceau à 200 kV et peuvent être associés à des fagots d'imogolites (diamètre de nanotube de l'ordre de 2 à 5 nm). Ainsi les phases de gels observés, comportent des hétérogénéités nanométriques.

---

<sup>7</sup> Le terme « gel » est utilisé à des fins de description. La préparation des échantillons comprend un séchage à l'air sur la grille MET et les analyses sont faites sous vide. Ce terme ne définit donc pas des propriétés de gel tel qu'une hydratation (sans exclure une hydratation des phases en amont de la préparation d'échantillon et de l'analyse).

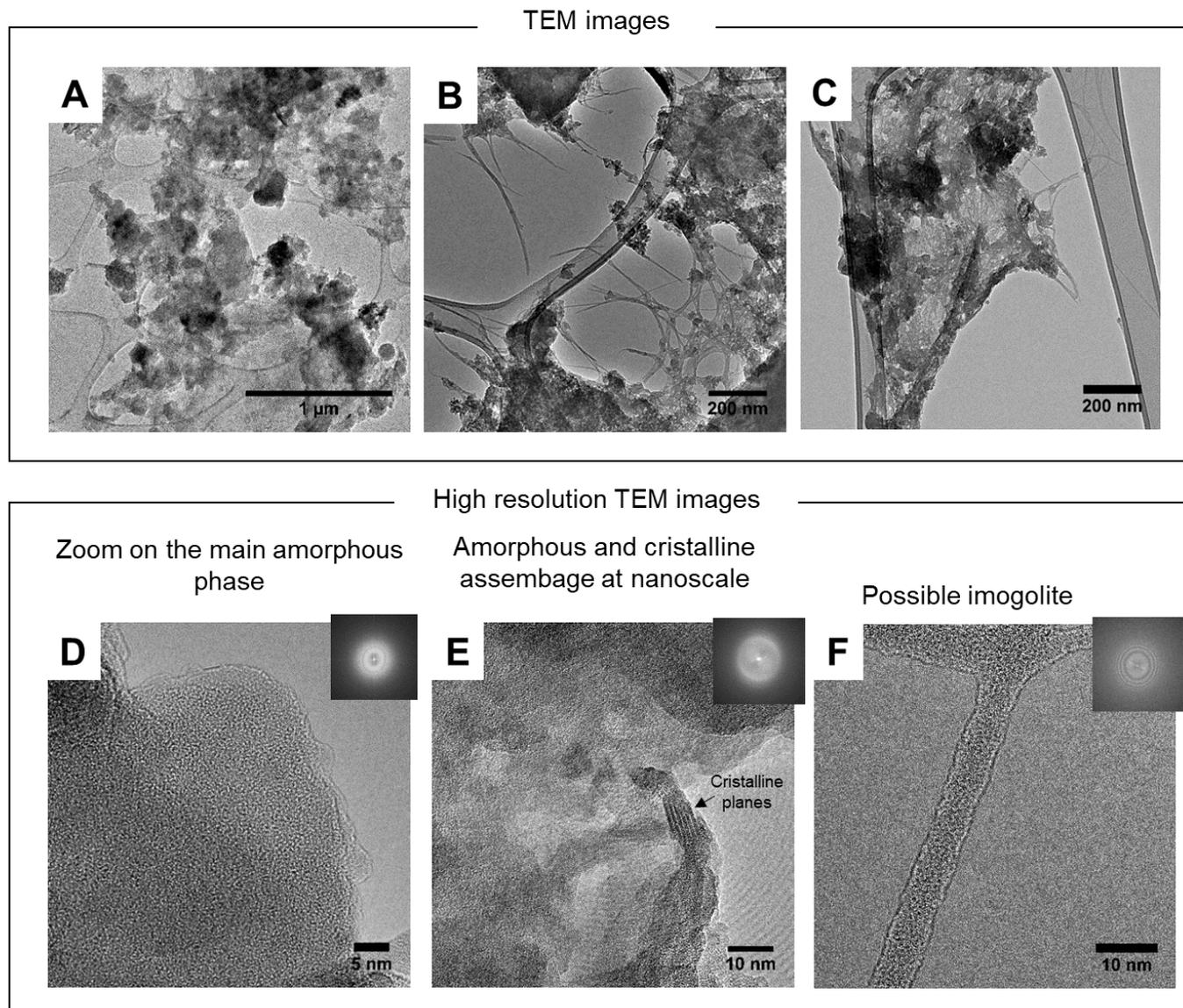


Figure 3. Morphologie de la phase de gel amorphe aux électrons par MET et MET haute résolution (HRTEM). Analyses sur les fractions « 1h fraction » ou « 48h fraction » du sol en forêt. Toutes les images réalisées par MET et HRTEM sont visibles en Annexe 1. - 170 -

## **Cartographies chimiques par STEM-EDX**

Dans un second temps, des cartographies chimiques par STEM-EDX ont été réalisées sur cette phase de gel (Figure 4). Toutes les cartographies par STEM-EDX sont accessibles en Annexe 2.

La Figure 4 comporte deux cartographies élémentaires effectuées sur la phase de gel (A et B). Les spectres EDX des trois zones (zone 1-3) sont composés en majorité d'O, C, Al, Si et peu de Fe. D'autres éléments tels que le P, S, Cl, Ca, Ti et Mn sont détectés mais en très faible proportion. La détection du C dans ces deux cartographies est répartie au sein de la phase de gel. Ce C est toujours colocalisé avec de l'Al, du Si et peu de Fe. Cependant, les proportions atomiques des éléments colocalisés sont spatialement hétérogènes. Les proportions atomiques du C, Al, Si et Fe sont variables sur les 3 zones ciblées : le C varie de 15 à 28 %, d'Al de 11 à 12 %, de Si de 6 à 11 % et de Fe de 0.5 à 1 %. Le ratio Al/Si de la zone 1, plus pauvre en C, est de  $\sim 1$ . Alors que les zones 2 et 3, qui sont comparativement plus riche en C, ont un ratio Al/Si de  $\sim 1.8$ .

Certaines zones des cartographies montrent des structures fibreuses en cohérence avec les observations faites en Figure 3 (▲, Figure 4). Ces zones sont riches en Al et Si ce qui corrobore notre hypothèse sur la présence d'imogolites, très certainement sous forme de fagots. La détection de C sur ces zones est faible. Cette faible détection peut être liée à la plus faible épaisseur de l'échantillon. Toutefois, ces analyses ne montrent pas plus de C détecté sur ces zones associées à des imogolites ou des paquets d'imogolites que sur le reste de la phase de gel.

Le Fe est distribué de deux manières, premièrement, il est colocalisé avec du C, de l'Al et du Si de façon diffuse mais sa proportion atomique est faible ( $< 1\%$  dans les proportions atomiques des zones ciblées). Deuxièmement, il est détecté concentré à certains endroits (appelés clusters) de l'ordre de la dizaine à la centaine de nanomètre peu colocalisé avec du C (Figure 4, Annexe 2) ou plus rarement, colocalisé avec du C (Annexe 2, EDX10 du sol en forêt).

Ainsi, suivant les résultats acquis par cartographies STEM-EDX, la phase de gel contient majoritairement de l'O, C, Al, Si et peu de Fe. Cependant les proportions atomiques sont variables spatialement : certaines zones sont moins riches en C (zone 1) tout comme des structures fibreuses associées à des imogolites qui ne comportent pas plus de C qu'ailleurs dans l'échantillon (▲), et certaines zones ont des clusters de Fe.

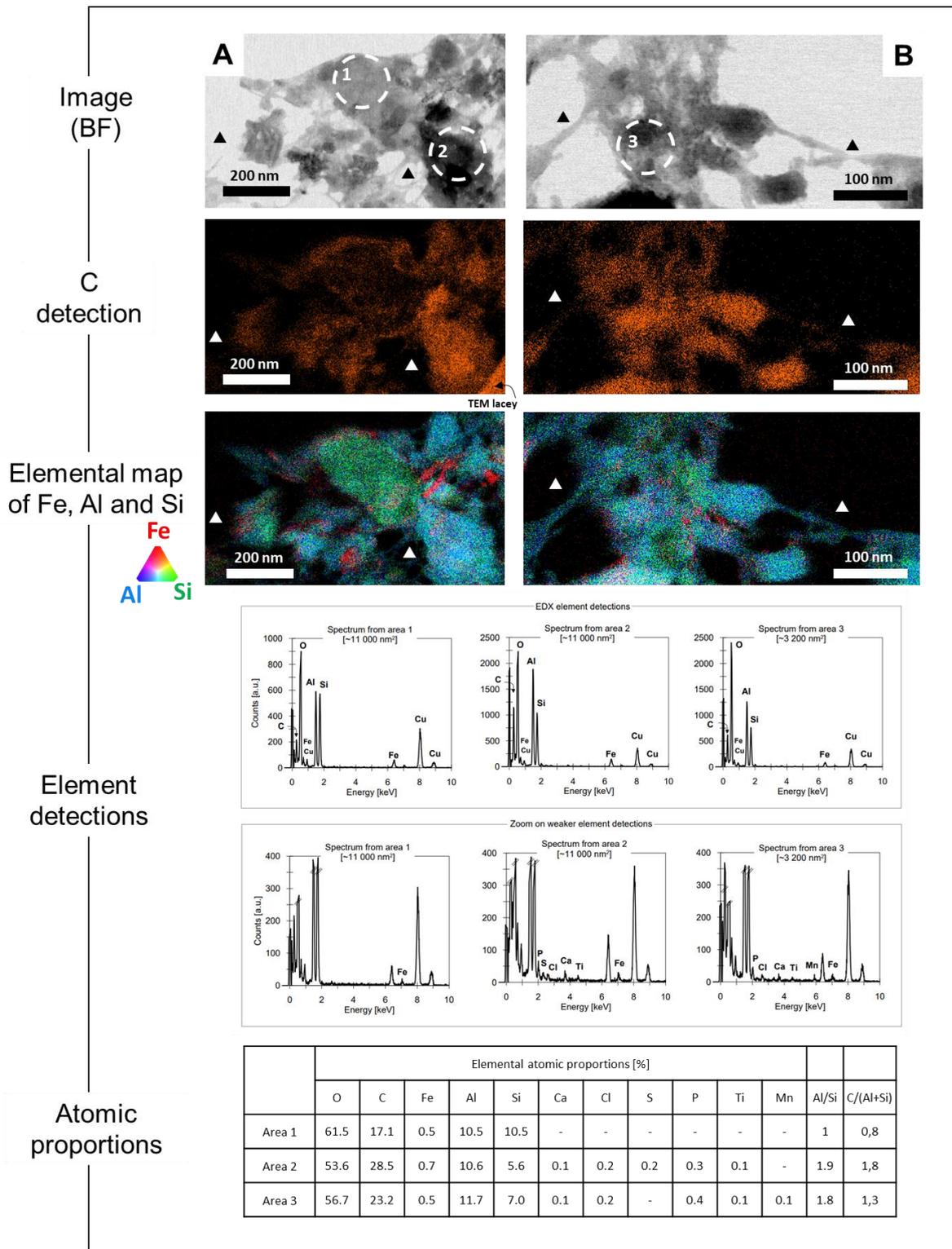


Figure 4. Cartographies élémentaires par STEM-EDX de la phase amorphe aux électrons. Analyse sur la fraction « 1h fraction » du sol en forêt. Les images sont faites en champ clair (Bright field). Les spectres des zones 1, 2 et 3 sont figurés suivant deux échelles d'intensités de coups afin de visualiser les détections des éléments majoritaires et minoritaires. Les proportions atomiques dans le tableau sont issues de ces spectres. Le figuré ▲ indique des zones d'imogolites ou de fagots d'imogolites. La détection de Cu provient du support d'analyse et n'est pas prise en compte dans les proportions atomiques.

## **Cartographies chimiques par STEM-EELS**

Dans un troisième temps, des analyses par STEM-EELS ont été faites afin d'améliorer la résolution spatiale des colocalisations observées par STEM-EDX. Toutes les observations par STEM-EELS sont accessibles en Annexe 3.

La Figure 5 présente deux cartographies, faites avec (A) un pixel de 50 nm, dans un but de comparaison des détections avec les cartographies par STEM-EDX et (B) avec un pixel de 10 nm afin d'acquérir des détections élémentaires à cette échelle.

La cartographie (A), faite avec un pixel d'acquisition de 50 nm (de distance latérale) comporte des spectres bruités, mais ces spectres permettent d'attester une détection de C, O, Al et Si. Les distributions élémentaires sont assez similaires à celles effectuées par STEM-EDX : avec (i) une colocalisation de C, Al et Si (zone 1) et (ii) la présence de zones avec du Si et de l'Al, mais pauvre en C (zone 2).

La cartographie (B), faite avec un pixel d'acquisition de 10 nm (de distance latérale), comporte aussi deux zones distinctes : (i) une zone avec une colocalisation d'Al, de Si mais qui semble pauvre en C et en Fe (zone 3) et (ii) une zone avec une colocalisation de C, Al, Si et peu de Fe (zone 4). Dans la zone de colocalisation de C, Al, Si et peu de Fe (zone 4), le spectre correspondant à un pixel seulement (zone 5) est très bruité mais montre la faisabilité de la détection de C, O, Al et Si à l'échelle de 10 nm.

La détection du Fe par STEM-EELS est très faible ou inexistante dans les spectres des zones montrées en Figure 5. Quelques zones de clusters de Fe sont détectées comme pour les cartographies par STEM-EDX. Dans ces zones de clusters, la détection du Fe est faible et toujours colocalisée avec de l'Al et du Si (spectre non montré).

Ainsi, les analyses par STEM-EELS ont confirmé la détection (i) de zones comportant du C, Al et Si et (ii) de zones comportant de l'Al et Si avec peu ou pas de C. La colocalisation élémentaire du C, Al et Si est analysée jusqu'à 10 nm.

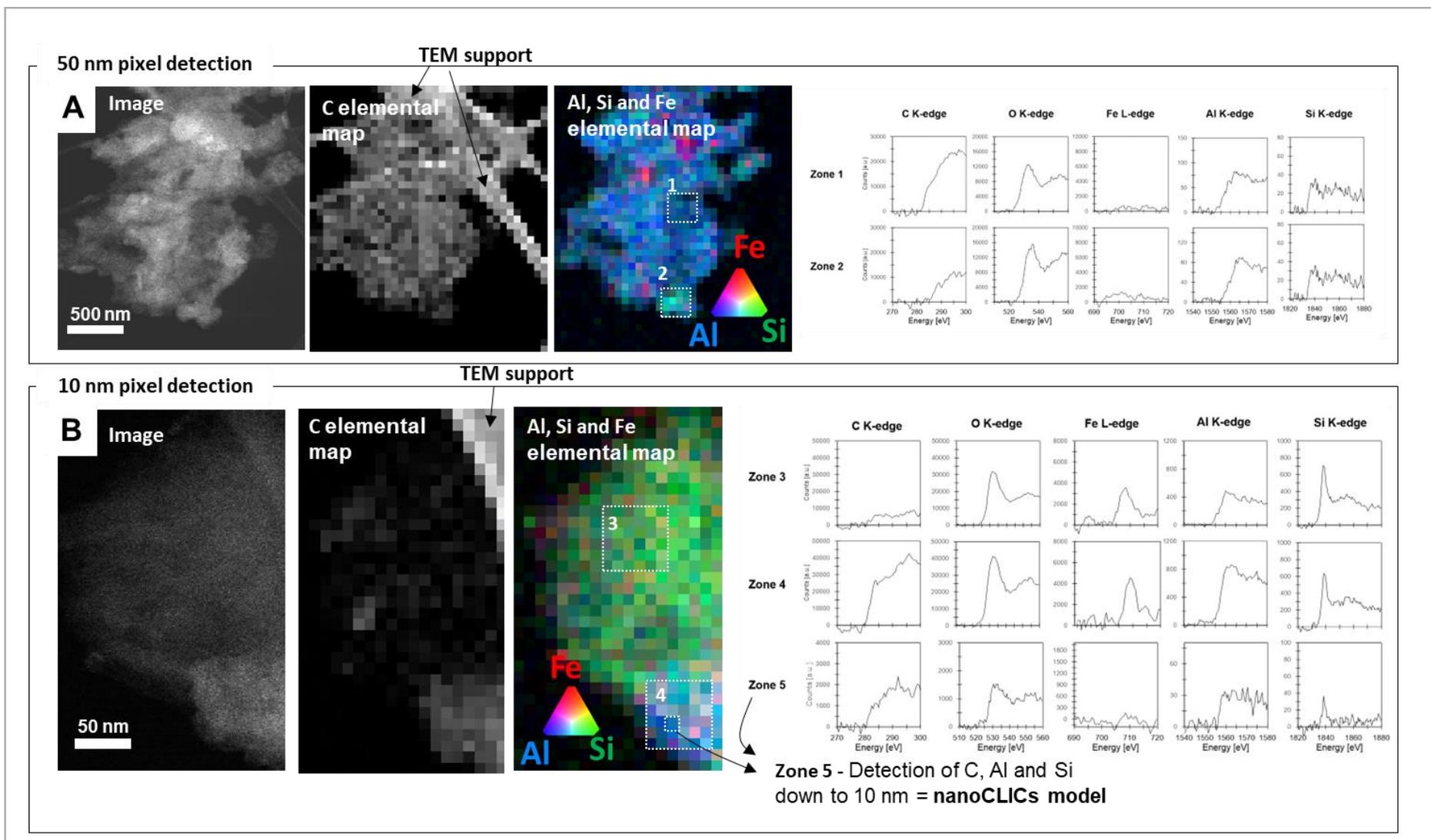


Figure 5. Cartographies élémentaires et spectres des seuils du C, O, Fe, Al et Si par STEM-EELS de la phase de gel. Analyses sur la fraction « 48h fraction » du sol en forêt. Les analyses sont faites avec une taille de pixel de 50 nm (distance latérale de pixel ; A) et avec une taille de pixel de 10 nm (distance latérale de pixel ; B). Toutes les observations par TEM-EELS sont visibles en Annexe 4.

#### **4.3.2.2. Analyses des fractions fines du sol cultivé**

Comme pour le sol en forêt, l'observation des fractions fines de l'andosol cultivé a été effectuée par des images en TEM et HRTEM, puis des cartographies par STEM-EDX et enfin par des cartographies STEM-EELS (Figure 6). Les observations entre les deux sols sont similaires, c'est pourquoi les analyses des fractions fines du sol cultivé sont décrites succinctement.

Les analyses MET ont majoritairement imagé une phase de gel. Les cartographies par STEM-EDX mettent en évidence une détection du C toujours colocalisé avec de l'Al et du Si et plus faiblement avec du Fe. Les proportions atomiques et les ratios élémentaires calculés à partir des spectres EDX sont similaires pour le sol en forêt et cultivé. Dans le sol cultivé, certaines zones semblent plus riches en Al et Si et plus pauvre en C. Le Fe est détecté à la fois, en faible proportion de manière diffuse dans les zones de colocalisation du C, Al et Si mais aussi, sous forme de clusters. Les analyses, pas STEM-EELS montre des cartographies chimiques similaires à celles effectuées par STEM-EDX. La détection du C, Si et Al est mesurée jusqu'à un pixel de 15 nm (distance latérale ; spectre EELS en Annexe 4).

Ainsi, aucune différence entre les fractions fines du sol en forêt et cultivé n'est observée aux nano-échelles. Cependant, le nombre de cartographie (n) par STEM-EDX (sol cultivé n=4, sol forêt n=12) et TEM-EELS (sol cultivé n=3, sol forêt n=6) est plus faible pour le sol cultivé que pour le sol en forêt.

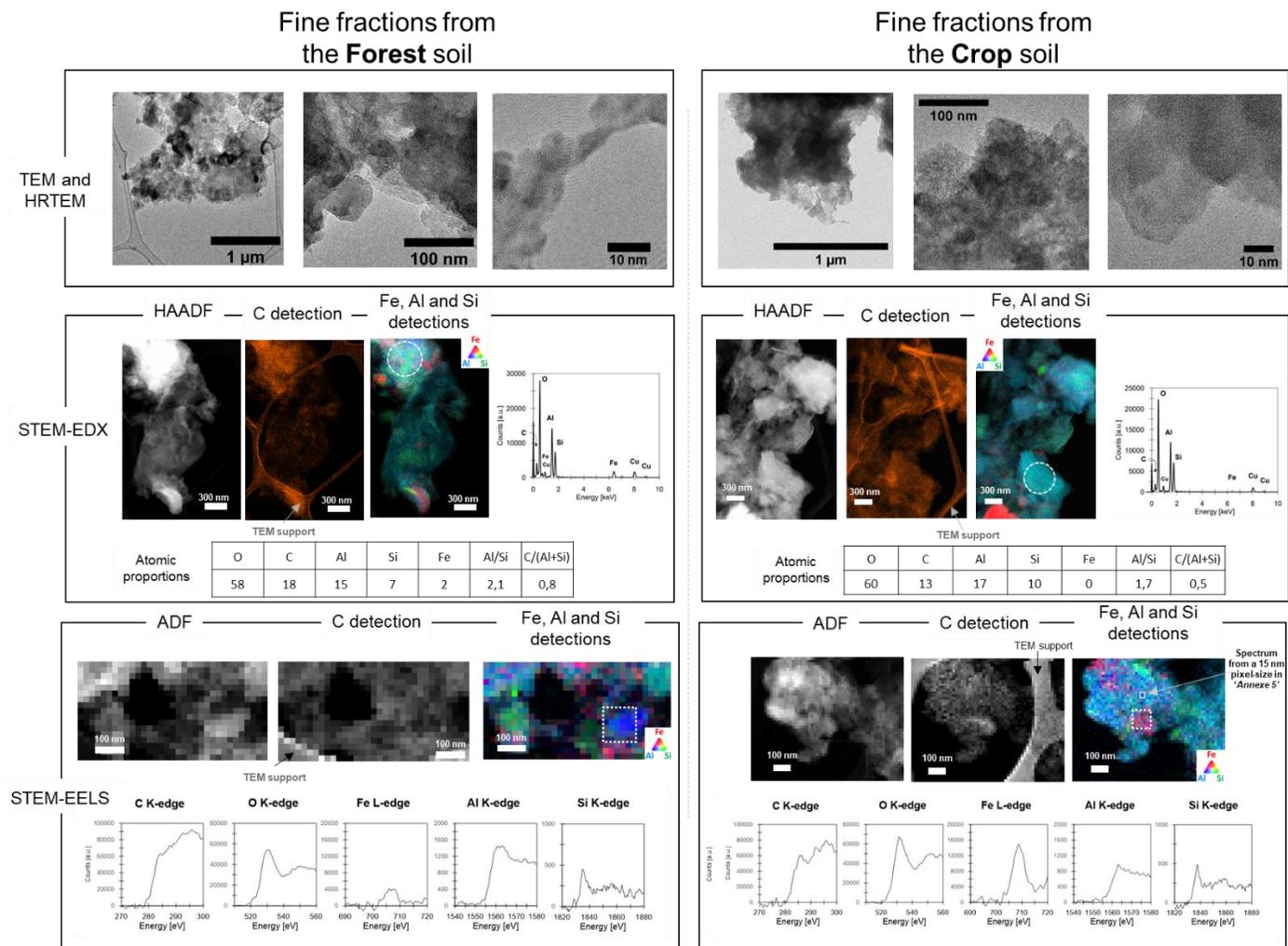


Figure 6. Observations par TEM et HRTEM, STEM-EDX et TEM-EELS des fractions fines du sol en forêt et cultivé. Analyses effectuées sur les fractions fines « 48h-fraction » pour les deux sols. Les spectres EDX et EELS montrés proviennent des zones délimitées par des carrés blancs. Ces zones sont de surfaces égales entre les deux sols, soit sur 125000 nm<sup>2</sup> pour les spectres EDX et 15000 nm<sup>2</sup> pour les spectres EELS. Les proportions atomiques, calculées à partir des spectres EDX, sont faites entre les éléments O, C, Al, Si et Fe seulement. Dans le sol cultivé, la colocalisation entre le C, l'O, l'Al et le Si est mesurée jusqu'à 15 nm, un spectre d'un pixel de 15 nm (distance latérale) est accessible en Annexe 4.

#### 4.3.2.3. Analyses de zones comportant des minéraux

Les fractions fines des andosols comportent majoritairement une phase de gel. Cependant quelques minéraux sont observés (Figure 7). Pour les deux minéraux, la diffraction électronique détecte un réseau cristallin (points blancs autour du faisceau direct sur les clichés de diffraction), alors que la phase de gel est caractérisée amorphe aux électrons (absence de points blancs autour du faisceau direct sur les clichés de diffraction).

La répartition du C, détecté par STEM-EDX, est essentiellement dans la phase de gel amorphe aux électrons (B et F). Cependant, cette phase amorphe ne contient pas seulement du C mais aussi de l'Al, du Si et un peu de Fe. Les deux minéraux montrés en Figure 7 sont composés de Si, Mg, Al, Ca et Fe, et pourraient être attribués à des orthopyroxènes (spectre en Annexe 5).

Afin de mieux visualiser les proportions atomiques du C, Al, Si et du Fe analysé sur le minéral et la phase de gel, ces proportions atomiques sont calculées sur des transects allant du centre du minéral jusqu'à la phase de gel amorphe (D et H). Les spectres EDX utilisés pour les proportions atomiques sont accessibles en Annexe 5. Les transects, des minéraux vers les phases amorphes, ont une augmentation de la proportion de C progressive et toujours colocalisée avec de l'Al, du Si et peu de Fe. Cependant, la structure 3D et l'enroulement (*coating*) de la phase de gel autour du minéral ne permettent pas de visualiser distinctement l'interface entre la phase de gel et le minéral.

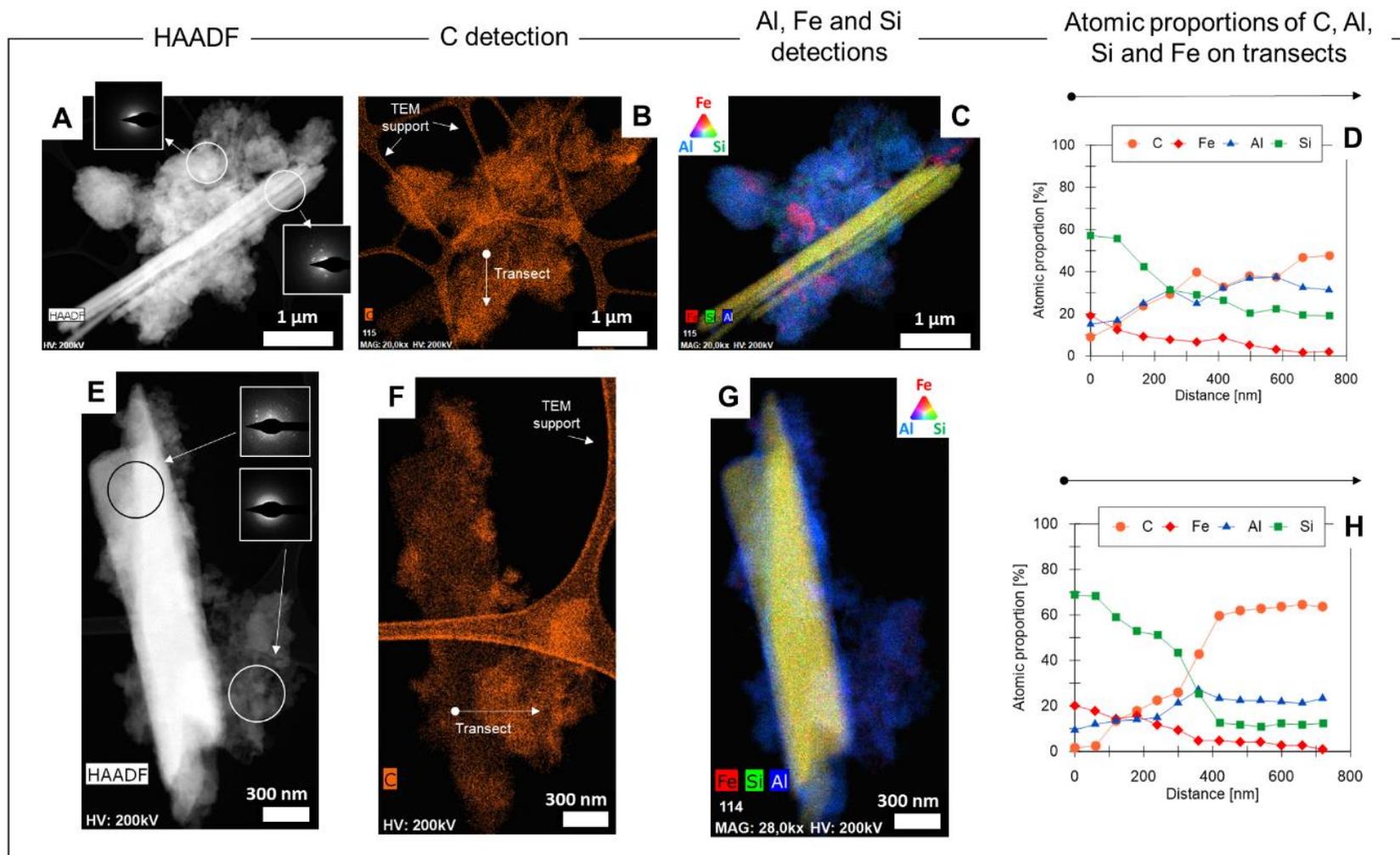


Figure 7. Caractérisation par TEM et cartographies chimiques par STEM-EDX de zones avec une phase minérale cristallisée et une phase amorphe. Analyse sur l'échantillon « 1h-fraction » du sol cultivé. Les spectres EDX utilisés pour les proportions atomiques sont visibles en Annexe 5

## 4.4. Discussion

### 4.4.1. Une diversité de nano-phases

Les observations effectuées aux nano-échelles mettent en évidence une phase de gel majoritaire. Cette phase de gel comporte du C colocalisé avec du Si et de l'Al. La nature de cette phase sera discutée en partie 4.4.2. Cependant certaines nano-phases observées ne semblent pas ou peu liées au C. Elles sont décrites ci-après :

- Des nano-phases fibreuses sont identifiées en Figure 3 et 4. Ces objets peuvent être associés à des imogolites. Les cartographies par STEM-EDX ne montrent pas de détection préférentielle du C sur ces zones d'imogolites ou fagots d'imogolites (Figure 4). Ainsi, la présence d'imogolites est attestée mais son rôle dans la stabilisation du C semble minoritaire.
- Aussi, Le Fe est concentré dans certaines zones, appelées 'clusters'. Ces clusters sont peu associés au C (Figure 4). Une répartition du Fe en cluster a déjà été observée dans la littérature, par STEM-EDX dans un andosol provenant de l'île de la Réunion (Cam et al. in prep). Aussi, Filimonova et al. (2016) a émis l'hypothèse d'oxyhydroxides Fe nano-particulaire dans des fractions d'andosols provenant d'Allemagne. Ainsi, le regroupement du Fe sous forme de clusters pourrait être récurrent dans les andosols.
- En revanche, les allophanes, tels que définis en Figure 1, ne sont pas observés. Pourtant, l'observation d'allophanes par des images MET est possible (Wada and Harward, 1974; Parfitt et al., 1980). Nous supposons donc que ces objets ne sont pas ou peu présents dans les fractions fines étudiées.

Ainsi, plusieurs types de nano-phases d'andosol sans C ou pauvres en C co-existent. Elles semblent être contenues et/ou liées par la phase de gel. C'est dans cette phase de gel que la majorité du C est détectée.

### 4.4.2. Une stabilisation du C sous forme de coprécipités

La phase de gel observée dans cette étude comporte du C, toujours observé avec de l'Al et du Si. La colocalisation du C avec de l'Al et du Si est détectée jusqu'à 10 nm (Figure 5). Dans cette phase de gel, le ratio atomique Al/Si est  $\sim 1.8$  (Figure 4). Ce ratio est proche de celui des ITM variable de  $\sim 1$  à 2 (Levard et al., 2012). Nous supposons donc que le C puisse être coprécipité avec des proto-imogolites ou bien avec des éléments complètement amorphes sous forme de nanoCLICs. Les observations effectuées dans cette étude ne permettent pas de distinguer la coprécipitation avec des proto-imogolites ou sous forme de nanoCLICs. Par ailleurs ces deux formes pourraient co-exister.

Les zones comportant du C ont un ratio C/(Al+Si) variables de l'ordre de 1.3 et 1.8 (Figure 4). Certaines zones appelées 'pauvre en C' ont un ratio C/(Al+Si) plus faible de

~0.8 (Figure 4 et 6). Ces zones 'pauvre en C' ont un ratio Al/Si variable de ~1 et 2.1 (Figure 4 et 6). Sachant que le ratio des phases ITM est variable de ~1 à 2 (Levard et al., 2012), les zones 'pauvre en C' pourraient être une coprécipitation de proto-imogolites mais aussi de Si amorphe avec peu de C. Nous supposons que la co-précipitation (c.-à-d. polymérisation) des éléments disponibles localement induise la formation de zones 'plus riches' ou 'pauvres' en C. Cependant ces zones 'plus riches' ou 'plus pauvres' en C sont difficilement séparables en deux pôles purs.

Afin d'expliquer les variabilités des proportions atomiques observées, nous proposons que les éléments inorganiques coprécipités comportent des ITM riches en Al (configuration du Si en Q<sub>0</sub>), des ITM riches en Si, des zones de Si amorphe et des zones avec de l'Al, du Si et du Fe sous forme nanoCLICs (amorphe). Ces différentes configurations sont illustrées en Figure 8. Dans les andosols, toutes ces phases pourraient co-exister ainsi que des phases intermédiaires. De plus, la quantité de C coprécipité avec ces phases inorganiques pourrait être variable. Nous proposons que les phases intermédiaires entre les ITM riches en Al et les nanoCLICs pourraient être plus communément appelée nanoCLICs, car ce modèle comprend une variabilité élémentaire forte aux nano-échelles comme théorisé par Tamrat et al. (2019).

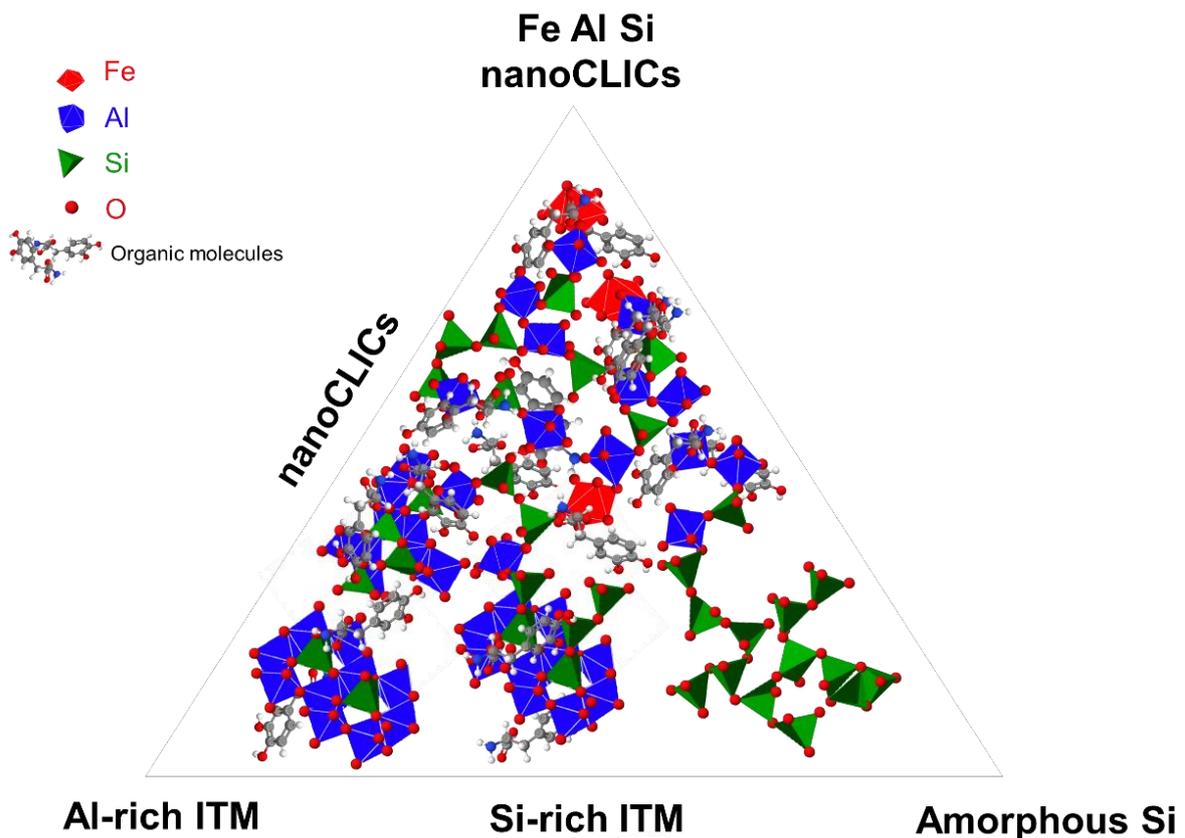


Figure 8. Représentation schématique des coprécipités possibles dans les fractions fines d'andosols. Les molécules organiques sont représentées par une molécule de 3,4-dihydroxyphénylalanine. Néanmoins, les molécules organiques coprécipitées sont probablement très diverses. Cette figure ne représente pas les liaisons entre les molécules organiques et les éléments inorganiques car elles ne sont pas connues.

### 4.4.3. Une possible adsorption de coprécipités sur des minéraux ?

Les cartographies STEM-EDX en Figure 7, ne permettent pas d'interpréter les transects montrés comme une interaction entre les minéraux et la phase de gel. Toutefois, un mécanisme d'adsorption de C seul sur des surfaces minérales de l'échelle micrométrique à l'échelle centi-nanométrique (tel que défini par Kleber et al., 2015) ne semble pas présent dans ces fractions fines. Des processus d'adsorption de molécules organiques seules sont aussi théorisés à l'échelle nanométrique (Kleber et al., 2007). Les observations réalisées ne permettent pas de réfuter la présence de ce mécanisme à l'échelle nanométrique. Cependant les cartographies STEM-EDX, ne montrent pas une forte détection de C sur le pourtour et les surfaces des minéraux. Les détections sont plus fortes dans la phase de gel amorphe.

C'est cette phase de gel amorphe qui semble au contact des surfaces minérales. Cette phase est composée de C, Al et Si sous forme de coprécipités de type nanoCLICs, tel que défini en partie 4.4.2. Ainsi, de l'adsorption de C dans des nanoCLICs pourrait être possible. Cette sorption de nanoCLICs pourrait être provoquée par la préparation d'échantillon. Mais puisque que les fractions fines sont séchées à l'air sur le support de microcopie à la suite de sédimentations dans de l'eau ultrapure, nous supposons qu'aucun agent chimique ne provoque cette adsorption de coprécipités et qu'elle peut donc se produire à l'état naturel.

Ces observations sont acquises dans un type de sol particulier, un andosol. Toutefois, ces résultats questionnent le mécanisme d'adsorption de MO seules tels que décrits par Kleber et al., (2007 et 2015). Les solutions du sol sont riches en éléments organiques et en éléments inorganiques issus de l'altération minérale (Strobel et al., 2001; Kaiser et al., 2002). Les MO dans ces solutions de sols pourraient être déjà complexées ou

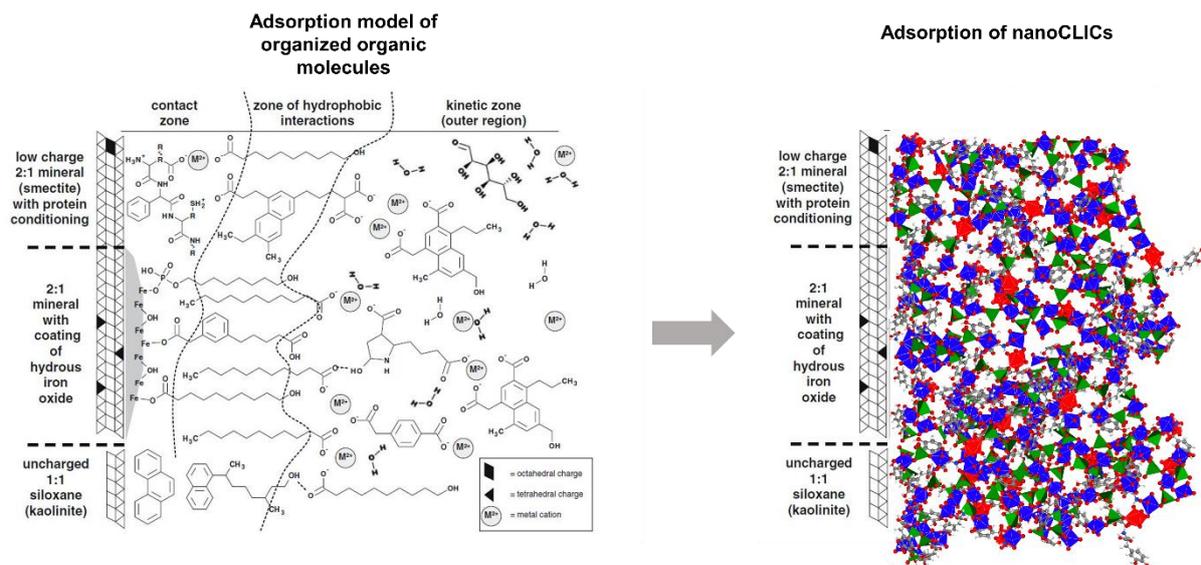


Figure 9. Représentation schématique du modèle d'adsorption tel que décrit par Kleber et al. (2007) de MO adsorbé sur des surfaces minérales et une vision d'un mécanisme d'adsorption de coprécipités-nanoCLICs sur les surfaces minérales.

coprécipitées avec des éléments inorganiques sous forme de nanoCLICs. Ainsi, il est possible que des MO complexées ou sous forme de nanoCLICs puissent être adsorbées sur les surfaces minérales (illustré en Figure 9). De futures recherches pourraient être conduites afin de caractériser plus précisément le mécanisme d'adsorption de C seul ou d'adsorption de C complexé ou coprécipité sous forme de nanoCLICs.

#### **4.4.4. Une détection de C coprécipité dans le sol en forêt et cultivé**

Après 30 ans de mise en culture de l'andosol, une partie du C issu des coprécipités est perdu sur l'horizon 0-30 cm (Chapitre 1). Cette perte de C serait causée par une perte de quantité de coprécipités mais aussi possiblement par une baisse de concentration en C dans ces coprécipités (Chapitre 1). Comme pour le sol en forêt, les observations en microscopie des fractions fines du sol cultivé indiquent aussi une stabilisation de C coprécipité de type nanoCLICs (tel que défini en partie 4.4.2). Les coprécipités restants ne semblent pas avoir de différences avec les coprécipités du sol en forêt. Le ratio élémentaire C/(Al+Si) en Figure 6 est certes un peu plus faible  $\sim 0.5$ . Mais les calculs de ratio C/(Al+Si) issu des phases de gels analysées en Figure 7, sont de  $\sim 0.9$  et de  $\sim 1.8$ . Ainsi, la variabilité de ce ratio semble guidée par la variabilité des coprécipités possibles dans les deux sols, et non attribuable à l'effet de la mise en culture. Puisqu'aucune différence n'est mise en évidence, et que le C du sol en forêt est analysé seulement sous forme de coprécipités-nanoCLICs, nous supposons que la perte de C des fractions fines du sol cultivé soit liée à une perte de quantité de coprécipités-nanoCLICs. Cependant, le nombre d'analyses est plus faible pour le sol cultivé que pour le sol en forêt. Des analyses plus approfondies pourraient étoffer ces résultats.

### **4.5. Conclusion**

Dans les fractions fines des d'andosols étudiés, les nano-phases sont composées d'imogolites, de clusters de Fe et de coprécipités. Comparés aux coprécipités, les imogolites et les clusters de Fe semblent stabiliser peu de C. Ces coprécipités sont composés de C, d'Al, de Si et peu ou pas de Fe. Aussi, les proportions atomiques entre le C, Al, Si sont variables spatialement. Les colocalisations de C, d'Al et de Si sont détectées jusqu'à l'échelle de 10 nm. Afin d'expliquer les variabilités de proportions atomiques observées, nous proposons que les éléments inorganiques coprécipités comportent des ITM riches en Al (configuration du Si en Q0), des ITM riches en Si, des zones de Si amorphe et des zones comportant de l'Al, du Si et du Fe sous forme nanoCLICs (amorphe). Toutes ces phases pourraient co-exister ainsi que des phases intermédiaires. De plus, la quantité de C coprécipité avec ces phases inorganiques pourrait être variable. Nous proposons que des phases intermédiaires entre les ITM riches en Al et les nanoCLICs pourraient être plus communément appelée nanoCLICs, car ce modèle conceptualise une variabilité élémentaire forte aux nano-échelles (Tamrat et al., 2019). Aussi, l'analyse de cartographie sur certains minéraux ne semble pas montrer d'adsorption de C seul mais plutôt une

adsorption de C coprécipité avec de l'Al et du Si. De futures recherches pourraient être conduites afin de caractériser plus précisément le mécanisme d'adsorption de C seul ou d'adsorption de C complexé ou coprécipité sous forme de nanoCLICs.

Les fractions fines du sol en forêt et du sol cultivé n'ont pas montré de différence aux nano-échelles. Nous supposons que la perte de C des fractions fines du sol cultivé soit liée à une perte de quantité de coprécipités-nanoCLICs. Cependant, des analyses plus approfondies pourraient étoffer ces résultats.

## 4.6. Références bibliographiques

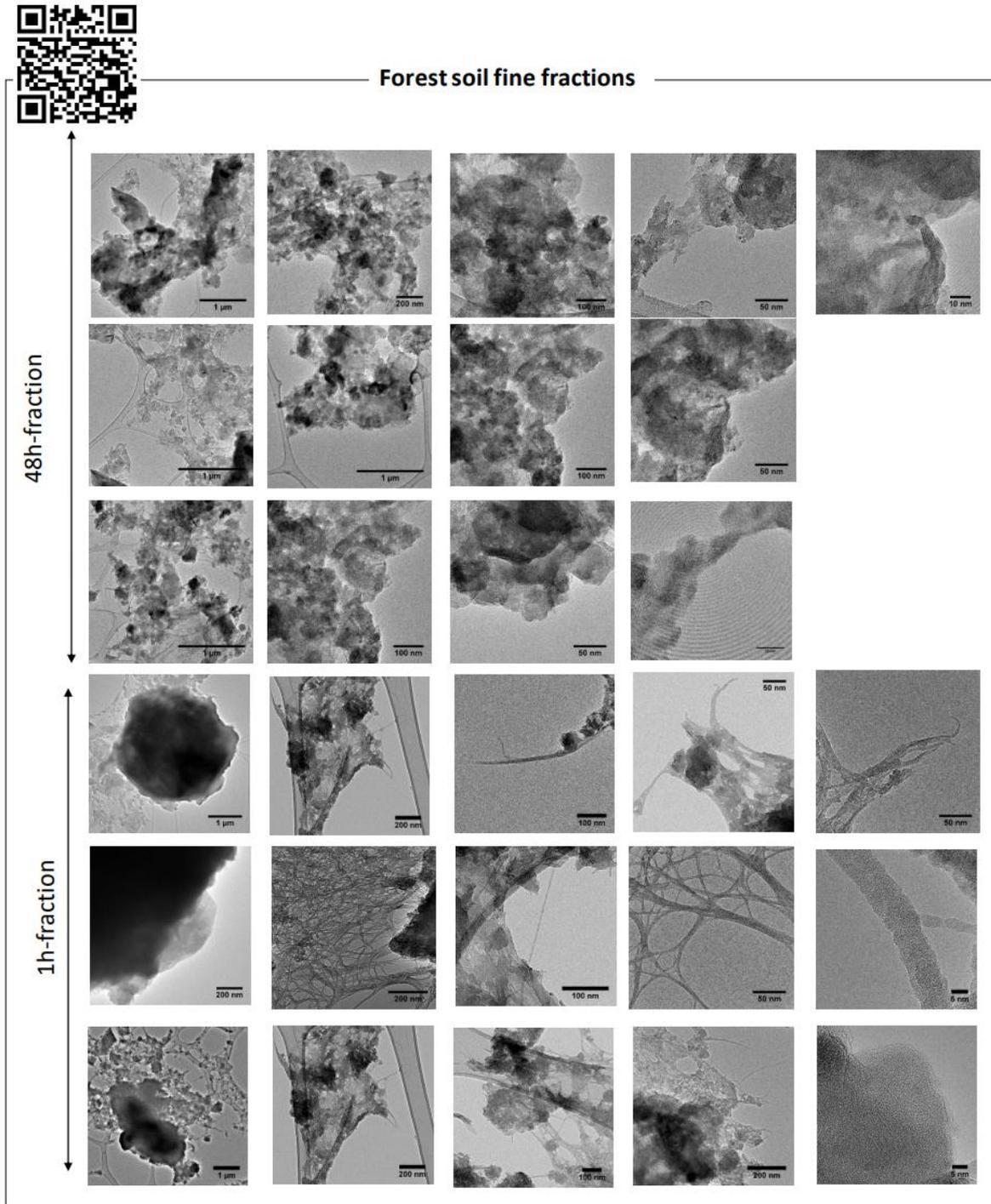
- Arachchige, P.S.P., Hettiarachchi, G.M., Rice, C.W., Dynes, J.J., Maurmann, L., Wang, J., Karunakaran, C., Kilcoyne, A.L.D., Attanayake, C.P., Amado, T.J.C., Fiorin, J.E., 2018. Sub-micron level investigation reveals the inaccessibility of stabilized carbon in soil microaggregates. *Scientific Reports* 8, 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34981-9>
- Asano, M., Wagai, R., Yamaguchi, N., Takeichi, Y., Maeda, M., Suga, H., Takahashi, Y., 2018. In Search of a Binding Agent: Nano-Scale Evidence of Preferential Carbon Associations with Poorly-Crystalline Mineral Phases in Physically-Stable, Clay-Sized Aggregates. *Soil Systems* 2, 32.
- Basile-Doelsch, I., Amundson, R., Stone, W.E.E., Borschneck, D., Bottero, J.Y., Moustier, S., Masin, F., Colin, F., 2007. Mineral control of carbon pools in a volcanic soil horizon. *Geoderma* 137, 477–489. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2006.10.006>
- Basile-Doelsch, I., Amundson, R., Stone, W.E.E., Masiello, C.A., Bottero, J.Y., Colin, F., Masin, F., Borschneck, D., Meunier, J.D., 2005. Mineralogical control of organic carbon dynamics in a volcanic ash soil on La Réunion. *Eur. J. Soil Sci.* 56, 689–703. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2005.00703.x>
- Basile-Doelsch, I., Balesdent, J., Pellerin, S., 2020. Reviews and syntheses: The mechanisms underlying carbon storage in soil. *Biogeosciences Discuss.* 1–33. <https://doi.org/10.5194/bg-2020-49>
- Chen, C., Dynes, J.J., Wang, J., Karunakaran, C., Sparks, D.L., 2014. Soft X-ray Spectromicroscopy Study of Mineral-Organic Matter Associations in Pasture Soil Clay Fractions. *Environ. Sci. Technol.* 48, 6678–6686. <https://doi.org/10.1021/es405485a>
- Chenu, C., Plante, A.F., 2006. Clay-sized organo-mineral complexes in a cultivation chronosequence: revisiting the concept of the 'primary organo-mineral complex.' *European Journal of Soil Science* 57, 596–607. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2006.00834.x>
- Chevallier, T., Woignier, T., Toucet, J., Blanchart, E., Dieudonné, P., 2008. Fractal structure in natural gels: effect on carbon sequestration in volcanic soils. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 48, 231–238. <https://doi.org/10.1007/s10971-008-1795-z>
- Cotrufo, M.F., Ranalli, M.G., Haddix, M.L., Six, J., Lugato, E., 2019. Soil carbon storage informed by particulate and mineral-associated organic matter. *Nat. Geosci.* 12, 989–994. <https://doi.org/10.1038/s41561-019-0484-6>
- Filimonova, S., Kaufhold, S., Wagner, F.E., Häusler, W., Kögel-Knabner, I., 2016. The role of allophane nano-structure and Fe oxide speciation for hosting soil organic matter in an allophanic Andosol. *Geochim. Cosmochim. Acta* 180, 284–302. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2016.02.033>

- Inagaki, T.M., Mueller, C.W., Lehmann, J., Kögel-Knabner, I., 2019. Andosol clay re-aggregation observed at the microscale during physical organic matter fractionation. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 182, 145–148. <https://doi.org/10.1002/jpln.201800421>
- Inagaki, T.M., Possinger, A.R., Grant, K.E., Schweizer, S.A., Mueller, C.W., Derry, L.A., Lehmann, J., Kögel-Knabner, I., 2020. Subsoil organo-mineral associations under contrasting climate conditions. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 270, 244–263. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2019.11.030>
- Kaiser, K., Guggenberger, G., Haumaier, L., Zech, W., 2002. The composition of dissolved organic matter in forest soil solutions: changes induced by seasons and passage through the mineral soil. *Org. Geochem.* 33, 307–318. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(01\)00162-0](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(01)00162-0)
- Kleber, M., Eusterhues, K., Keiluweit, M., Mikutta, C., Mikutta, R., Nico, P.S., 2015. Chapter One - Mineral–Organic Associations: Formation, Properties, and Relevance in Soil Environments, in: Sparks, D.L. (Ed.), *Advances in Agronomy*. Academic Press, pp. 1–140. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2014.10.005>
- Kleber, M., Sollins, P., Sutton, R., 2007. A conceptual model of organo-mineral interactions in soils: self-assembly of organic molecular fragments into zonal structures on mineral surfaces. *Biogeochemistry* 85, 9–24. <https://doi.org/10.1007/s10533-007-9103-5>
- Lavallee, J.M., Soong, J.L., Cotrufo, M.F., 2020. Conceptualizing soil organic matter into particulate and mineral-associated forms to address global change in the 21st century. *Glob. Change Biol.* 26, 261–273. <https://doi.org/10.1111/gcb.14859>
- Lehmann, J., Kleber, M., 2015. The contentious nature of soil organic matter. *Nature* 528, 60–68. <https://doi.org/10.1038/nature16069>
- Lenhardt, K.R., Breitzke, H., Buntkowsky, G., Mikutta, C., Rennert, T., 2022. Interactions of dissolved organic matter with short-range ordered aluminosilicates by adsorption and co-precipitation. *Geoderma* 423, 115960. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2022.115960>
- Levard, C., Doelsch, E., Basile-Doelsch, I., Abidin, Z., Miche, H., Masion, A., Rose, J., Borschneck, D., Bottero, J.-Y., 2012. Structure and distribution of allophanes, imogolite and proto-imogolite in volcanic soils. *Geoderma* 183–184, 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2012.03.015>
- Libera, M.R., Egerton, R.F., 2010. Advances in the Transmission Electron Microscopy of Polymers. *Polym. Rev.* 50, 321–339. <https://doi.org/10.1080/15583724.2010.493256>
- Parfitt, R.L., Furkert, R.J., Henmi, T., 1980. Identification and Structure of Two Types of Allophane from Volcanic Ash Soils and Tephra. *Clays Clay Miner.* 28, 328–334. <https://doi.org/10.1346/CCMN.1980.0280502>
- Parfitt, R.L., Yuan, G., Theng, B.K.G., 1999. A <sup>13</sup>C-NMR study of the interactions of soil organic matter with aluminium and allophane in podzols. *Eur. J. Soil Sci.* 50, 695–700. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2389.1999.00274.x>
- Possinger, A.R., Bailey, S.W., Inagaki, T.M., Kögel-Knabner, I., Dynes, J.J., Arthur, Z.A., Lehmann, J., 2020. Organo-mineral interactions and soil carbon mineralizability with variable saturation cycle frequency. *Geoderma* 375, 114483. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114483>
- Rasmussen, C., Heckman, K., Wieder, W.R., Keiluweit, M., Lawrence, C.R., Berhe, A.A., Blankinship, J.C., Crow, S.E., Druhan, J.L., Hicks Pries, C.E., Marin-Spiotta, E., Plante, A.F., Schädel, C., Schimel, J.P., Sierra, C.A., Thompson, A., Wagai, R., 2018. Beyond

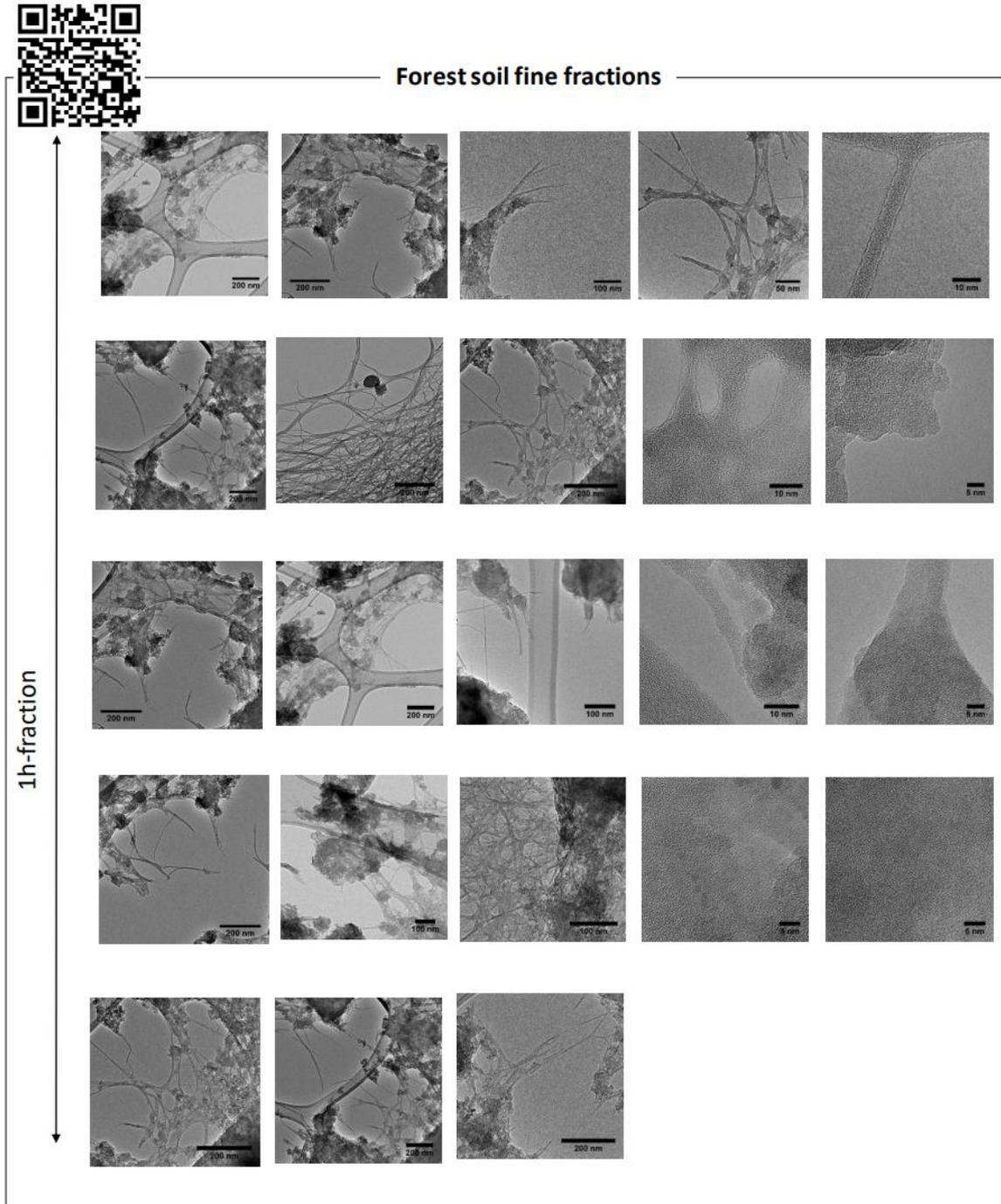
- clay: towards an improved set of variables for predicting soil organic matter content. *Biogeochemistry* 137, 297–306. <https://doi.org/10.1007/s10533-018-0424-3>
- Schmidt, M.W.I., Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I.A., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D.A.C., Nannipieri, P., Rasse, D.P., Weiner, S., Trumbore, S.E., 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* 478, 49–56. <https://doi.org/10.1038/nature10386>
- Solomon, D., Lehmann, J., Harden, J., Wang, J., Kinyangi, J., Heymann, K., Karunakaran, C., Lu, Y., Wirick, S., Jacobsen, C., 2012. Micro- and nano-environments of carbon sequestration: Multi-element STXM–NEXAFS spectromicroscopy assessment of microbial carbon and mineral associations. *Chemical Geology, Looking into the Nano-World using X-Rays* 329, 53–73. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2012.02.002>
- Strobel, B.W., Hansen, H.C.B., Borggaard, O.K., Andersen, M.K., Raulund-Rasmussen, K., 2001. Composition and reactivity of DOC in forest floor soil solutions in relation to tree species and soil type. *Biogeochemistry* 56, 1–26. <https://doi.org/10.1023/A:1011934929379>
- Wada, K., Harward, M.E., 1974. Amorphous Clay Constituents of Soils, in: Brady, N.C. (Ed.), *Advances in Agronomy*. Academic Press, pp. 211–260. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60872-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60872-X)
- Wagai, Rota, Masako Kajiura, et Maki Asano. « Iron and Aluminum Association with Microbially Processed Organic Matter via Meso-Density Aggregate Formation across Soils: Organo-Metallic Glue Hypothesis ». *SOIL* 6, n° 2 (7 décembre 2020): 597-627. <https://doi.org/10.5194/soil-6-597-2020>.
- Wen, Y., Li, H., Xiao, J., Wang, C., Shen, Q., Ran, W., He, X., Zhou, Q., Yu, G., 2014. Insights into complexation of dissolved organic matter and Al(III) and nanominerals formation in soils under contrasting fertilizations using two-dimensional correlation spectroscopy and high resolution-transmission electron microscopy techniques. *Chemosphere* 111, 441–449. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.03.078>

## 4.7. Annexes

Annexe 1. Imagerie par TEM et HRTEM des fractions fines du sol en forêt et en culture.



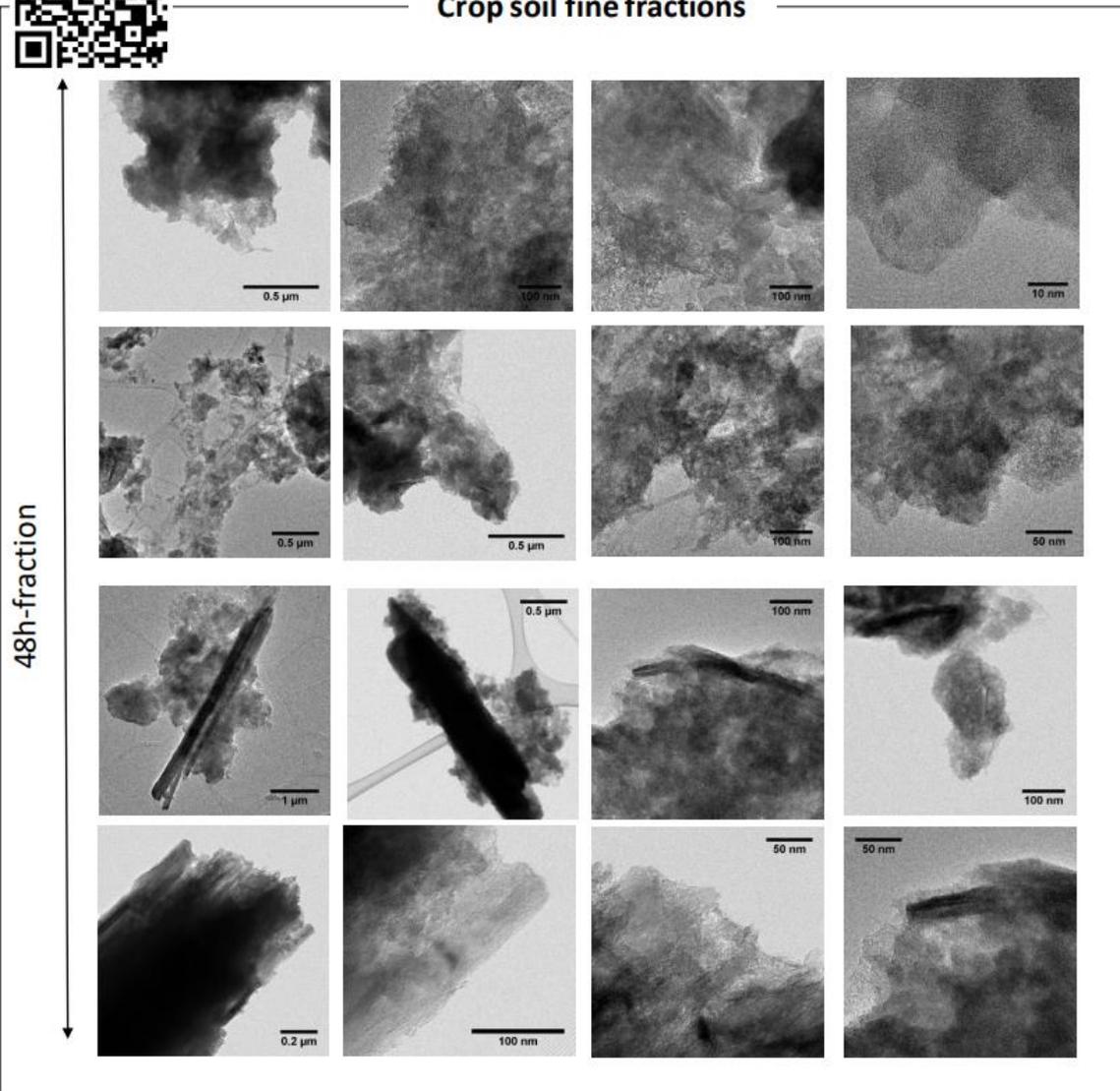
Annexe 1. Suite.



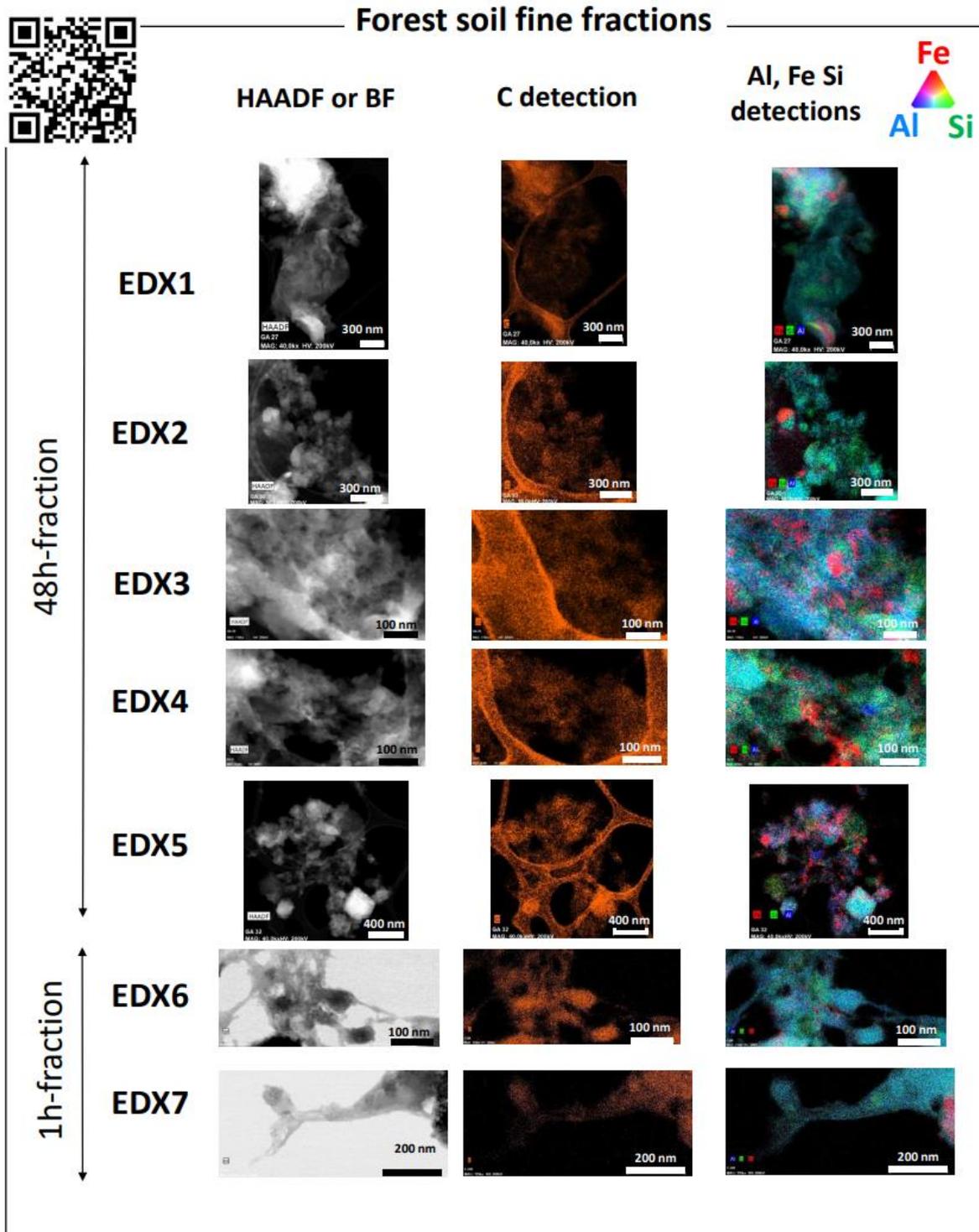
Annexe 1. Suite.



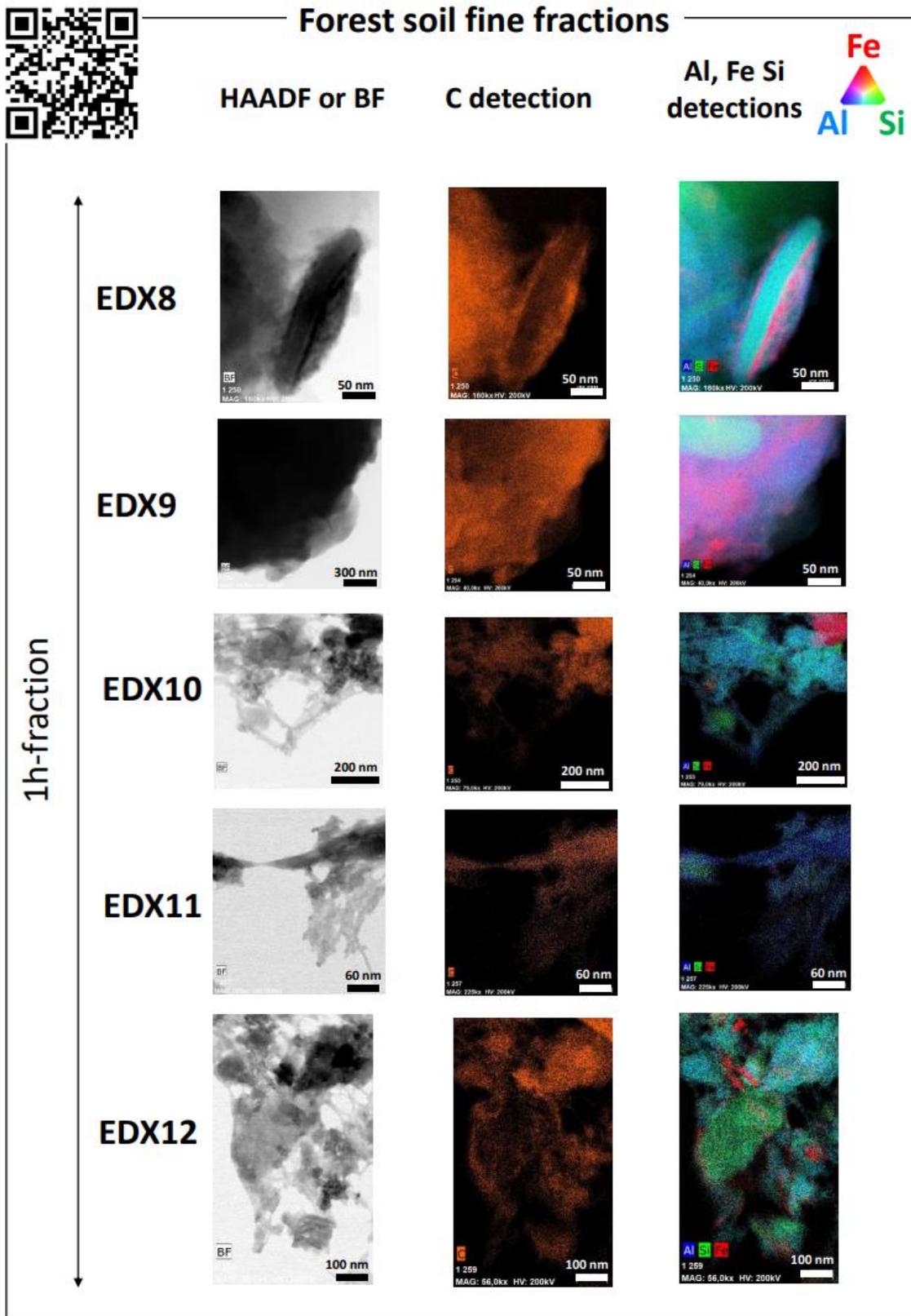
Crop soil fine fractions



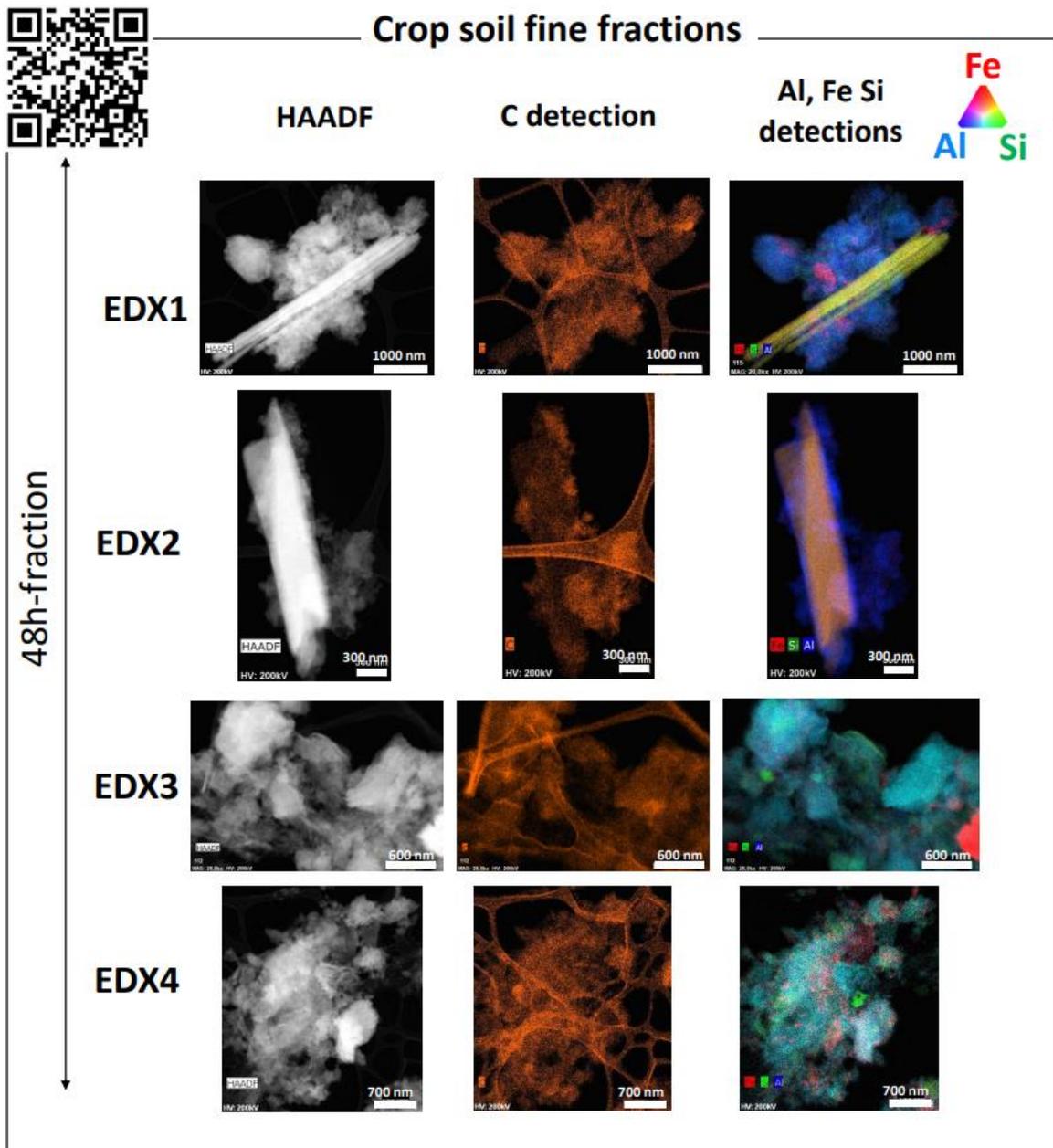
Annexe 2. Analyse par STEM-EDX des fractions fines du sol en forêt et en culture.



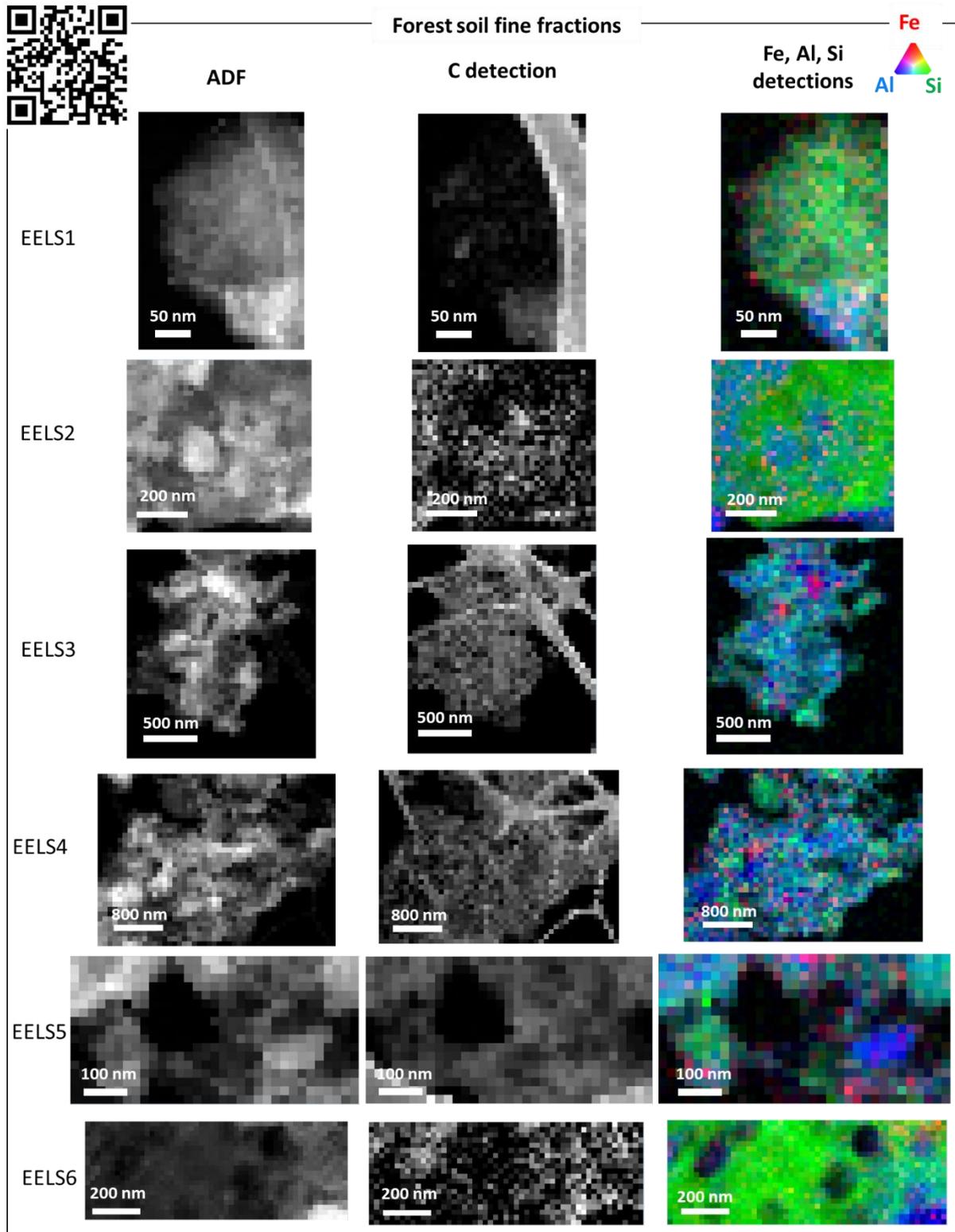
Annexe 2. Suite.



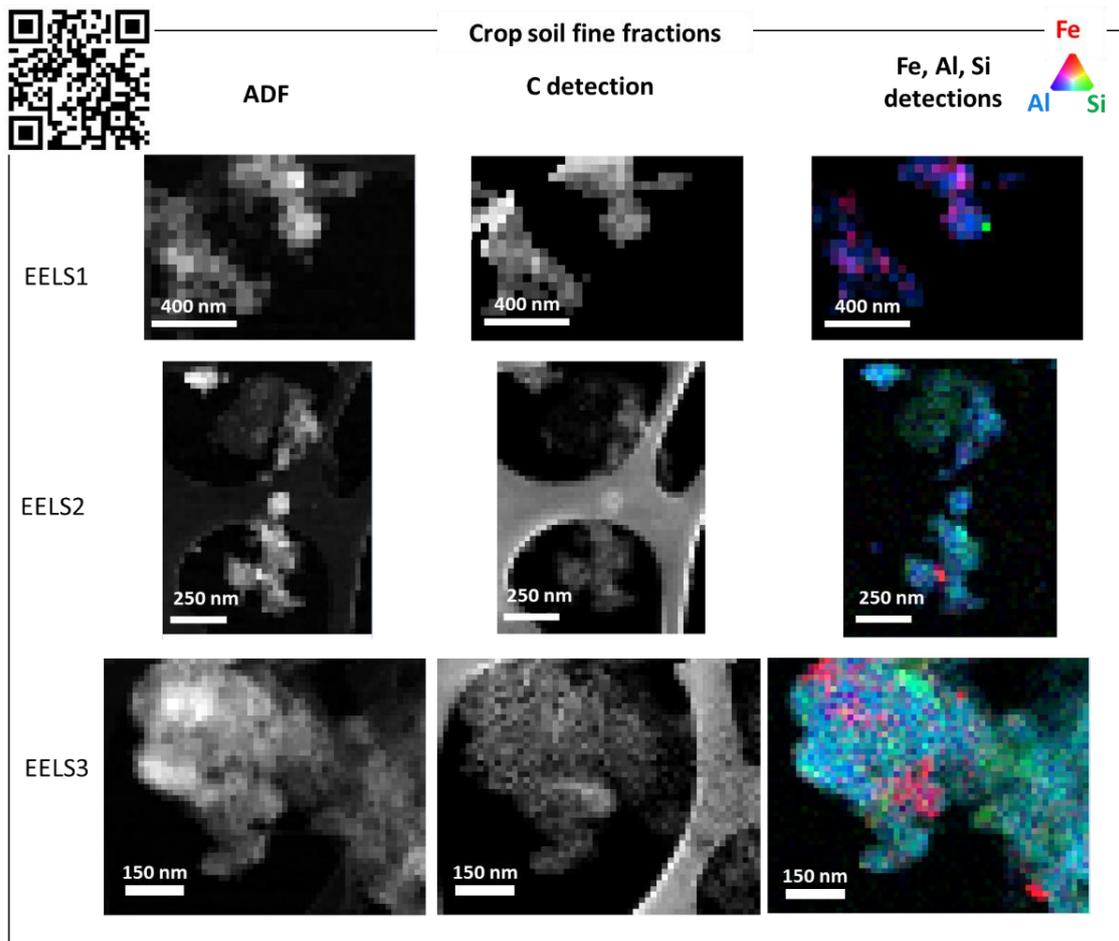
Annexe 2. Suite.



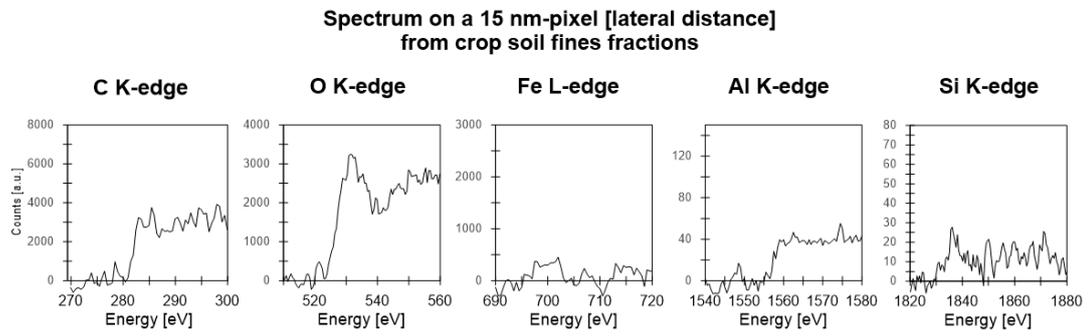
Annexe 3. Analyse par STEM-EELS des fractions fines du sol en forêt et en culture.



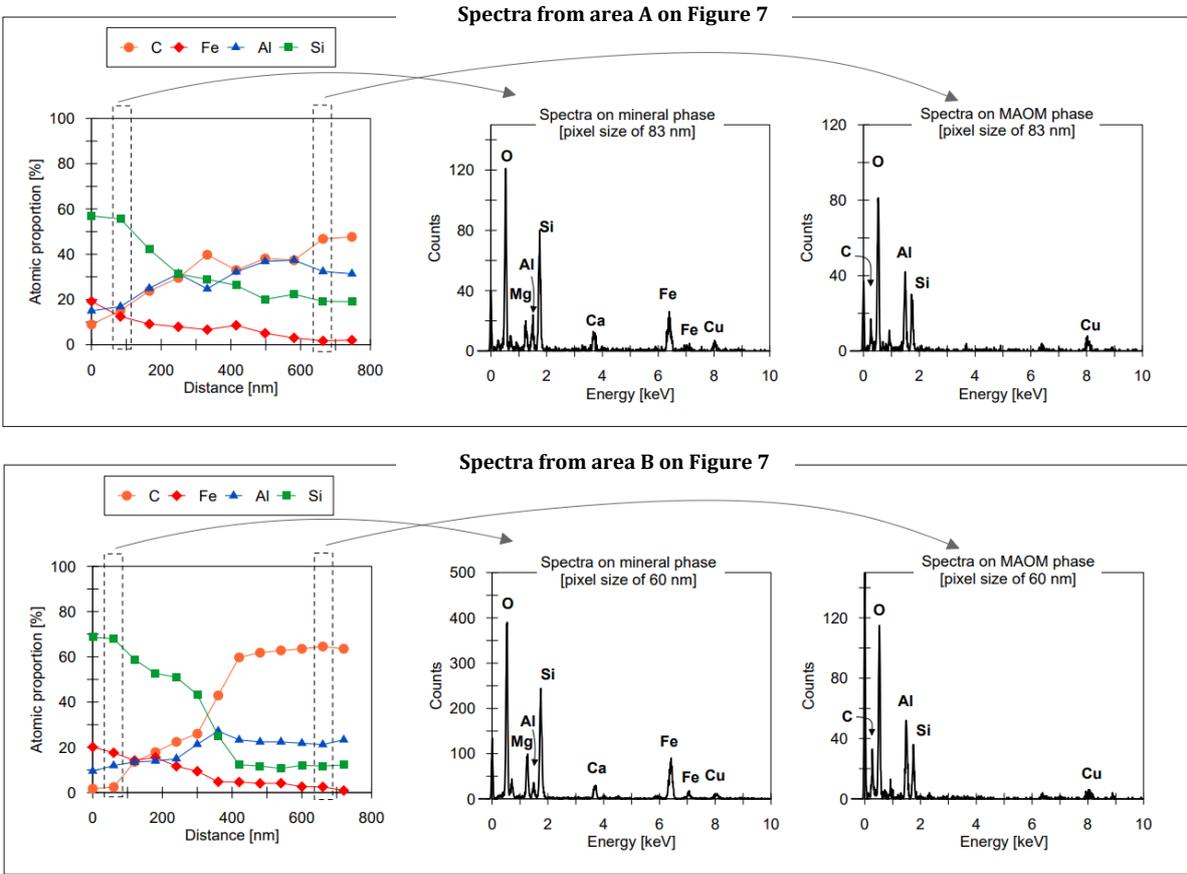
Annexe 3. Suite.



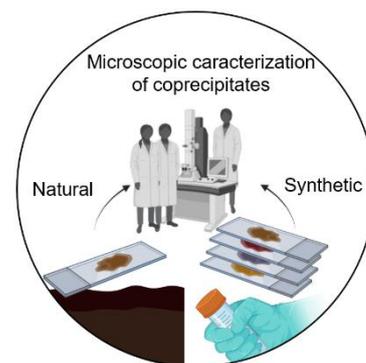
**Annexe 4. Spectre EELS mesuré dans un pixel de 15 nm (distance latérale)  
analysé sur un échantillon de fractions fines du sol cultivé (Figure 6).**



**Annexe 5. Exemples de spectres EDX d'un pixel des transects en Figure 7.** Les pixels utilisés pour les proportions atomiques sont de 83 et 60 nm (distance latérale de pixel) respectivement pour la zone A et B.



## 4B. Caractérisation de coprécipités-nanoCLICs par approches spectroscopiques aux rayons X



*Ce sous-chapitre de thèse comporte des résultats acquis au cours de l'année 2022. L'interprétation de ces résultats sera effectuée en 2023. À ce jour, seuls quelques éléments de discussion sont abordés dans ce chapitre.*

*Floriane Jamoteau a participé à une partie de la conception de l'expérience, la préparation des échantillons, l'acquisition des données, le traitement, l'analyse des résultats et la rédaction de ce chapitre. Emmanuel Doelsch a conceptualisé l'expérience et réalisé les demandes de temps faisceau, participé à la préparation d'échantillons, l'acquisition et traitement des données, l'analyse des résultats et à la rédaction de ce sous-chapitre. Isabelle-Basile Doelsch a conceptualisé l'expérience et contribué aux demandes de faisceau, participé à l'analyse des résultats. Clément Levard a participé à une partie de la conception de l'expérience, l'acquisition et l'analyse des résultats. Perrine Chaurand, Vladimir Vidal, Marie-Laure Pons et Sarah Wagon ont participé à l'acquisition des résultats en rayonnement synchrotron. Adrien Duvivier et Bernard Angeletti ont réalisé les analyses par ICP-MS et ICP-OES. Daniel Borschneck a réalisé les analyses par DRX. Sufal Swaraj et Stefan Stanescu ont aidé à l'acquisition des données en rayonnement synchrotron et à l'interprétation des données (synchrotron SOLEIL). Nicolas Brouilly a participé à la préparation des échantillons (IBDM Marseille). Claire Chevassus-Rosset, Mélanie Montes et Loïs Lachowicz ont réalisé les analyses de C en phase liquide (recyclage et risque, CIRAD). Nathalie Dupuy et Sandrine Amat ont réalisé les analyses par MIR-ATR (IMBE, Marseille).*

*En plus du financement de cette thèse par le CIRAD et la Région SUD, ces résultats ont été possibles grâce au synchrotron SOLEIL (ligne HERMES, technique STXM) et la collaboration avec l'IMBE équipe Biotechnologie et Chimiométrie. Aussi, des analyses de STXM ont été acquises à distance (en 'remote' à cause de la situation sanitaire COVID) aux synchrotrons ALS à Berkeley (USA) et CLS à Saskatoon (Canada). Elles ne sont pas exploitées dans ce chapitre.*

## 4.8. Introduction

L'association entre les matières organiques et minérales est un processus majeur de la stabilisation du C des sols (Schmidt et al., 2011; Lehmann and Kleber, 2015; Basile-Doelsch et al., 2020). Cette association a lieu principalement dans les fractions fines des sols et les matières organiques associées aux minéraux sont appelées MAOM (Mineral Associated Organic Matter; Cotrufo et al., 2019; Lavallee et al., 2020). Dans les sols à pH neutre à acide, les MAOM pourraient être associés par un mécanisme de coprécipitation (Rasmussen et al., 2018). L'étude de coprécipités d'andosols a montré que (i) les éléments inorganiques et organiques sont liés à des échelles inférieures à 10 nm, (ii) et que les proportions élémentaires entre le C, Al, Si et Fe sont variables spatialement (sous-chapitre 4A ; Cam et al., in prep). Ces résultats tendent à montrer la présence de coprécipités sous forme de nanoCLICs (Tamrat et al., 2019). Malgré la détection de cette association aux nano-échelles, les mécanismes d'associations du C aux éléments inorganiques ne sont à ce jour pas clairement identifiés.

Caractériser la spéciation d'un élément chimique, tels que le C, permet de renseigner sa coordination (nature et nombre des atomes voisins) et/ou son état d'oxydation (Cosmidis and Benzerara, 2014). L'étude de la spéciation du C permet de renseigner le type de fonctions chimiques présentes dans l'échantillon (carboxylique, phénolique, etc.) mais aussi d'éventuelles liaisons entre ces fonctions et d'autres éléments. Ainsi, la spéciation du C permet une compréhension mécanistique du C associé aux phases minérales des sols (MAOM) dont les coprécipités. L'analyse de la spéciation du C de sols bulk ou de micro-agrégats est très diverse et hétérogène spatialement (Lehmann et al., 2005; Schumacher et al., 2005; Solomon et al., 2005; Kinyangi et al., 2006; Solomon et al., 2007; Wan et al., 2007; Solomon et al., 2012; Dynes et al., 2015; Arachchige et al., 2018). Les études qui ont isolé des fractions MAOM des sols ont montré des spéciations du C variables (aromatique, aliphatique, carbonyle et carboxyle) en fonction des colocalisations élémentaires C-Fe, C-Ca et C-Ca-K (Chunmei Chen et al., 2014; Lutfalla et al., 2019). Ainsi, l'étude des systèmes naturels permet d'analyser des hétérogénéités de spéciation, mais l'interprétation de ces hétérogénéités reste complexe car elles peuvent être liées à l'interaction avec un ligand ou bien une différence de type de C. Ainsi, un système synthétique doit être en appui pour interpréter ces hétérogénéités de spéciation (Stuckey et al., 2017). L'étude de coprécipités synthétiques contenant du C avec du Fe a mis en évidence une complexation de groupements carboxyles avec du Fe (C Chen et al., 2014; Curti et al., 2021). Cependant, il semblerait que seule la coprécipitation en présence de Fe ait été testée. Etant donné la diversité des éléments inorganiques présents à l'état naturel dans les coprécipités d'andosols (Chapitre 4A), il semble nécessaire de synthétiser puis de caractériser des coprécipités en présence de ces éléments inorganiques : Al, Si et Fe.

Ainsi, l'objectif principal de cette étude est de caractériser le ou les mécanisme(s) d'association(s) du C et des éléments inorganiques dans les coprécipités-nanoCLICs. Pour cela, la colocalisation entre les éléments C, Fe et Al ainsi que la spéciation du C est

analysées au sein de coprécipités-nanoCLICs naturels issus de fractions fines d'andosol. En parallèle, des coprécipités-nanoCLICs synthétiques sont également analysés afin de renseigner la nature des associations observées au sein des nanoCLICs naturels.

Ces analyses sont faites par *Scanning transmission X-ray microscopy* (STXM) qui permet de combiner la cartographie chimique élémentaire ainsi que la caractérisation de la spéciation des éléments chimiques grâce à l'utilisation du rayonnement synchrotron. La résolution latérale de cette technique analytique est de 25-30 nm (Hitchcock et al., 2002; Cosmidis and Benzerara, 2014).

## 4.9. Matériels et méthodes

### 4.9.1. Échantillonnage de l'andosol et séparation des nanoCLICs naturels

Deux andosols issus de l'île de la Martinique ont été échantillonnés (horizon 10-15 cm). Le premier est issu d'un sol en forêt et le second est issu d'un sol cultivé. Plus d'informations sont disponibles en Chapitre 2. Les coprécipités-nanoCLICs de ces deux sols sont isolés par tamisage humide (fractions <20 µm, comme effectué en Chapitre 2). Ces fractions <20 µm sont séchées à 30 °C.

### 4.9.2. Formation des nanoCLICs synthétiques

Les synthèses de coprécipités-nanoCLICs sont réalisées avec de la L-DOPA pour les raisons suivantes :

- C'est une molécule organique de petite taille (les molécules organiques de faible poids moléculaire sont les principaux composés organiques des MAOM, Sutton et Sposito, 2005 ; Lehmann et Kleber, 2015).
- Aussi, le choix d'une seule molécule évite les fractionnements durant la coprécipitation (Tamrat et al., 2019).
- Cette molécule comporte une fonction catéchol et carboxylique ainsi qu'un groupement amide. Ces fonctions et groupements sont connus dans les MAOMs (Zimmerman et al., 2004; Mikutta, 2011).

Les coprécipités-nanoCLICs ont été synthétisés avec divers éléments : (i) du Fe ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), (ii) de l'Al ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), (iii) du Fe et de l'Al ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), (iv) de l'Al et du Si issus de l'altération de labradorite et (v) du Fe, Al, Si et Mg à partir d'altération de basalte. Ces modalités sont respectivement appelées Fe-DOPA, Al-DOPA, Fe-Al-DOPA, Al-Si-DOPA et Fe-Al-Si-Mg-DOPA pour le reste de ce sous-chapitre.

Les solutions d'altération minérale de labradorite et de basalte sont obtenues à partir de 33g de minéraux broyés (labradorite ou basalte ; <100µm) agités dans 2 L d'acide nitrique à pH 1 durant 30 jours minimum. Afin d'obtenir seulement les éléments en solution issus de l'altération, les solutions sont filtrées par flux tangentiel (TFF) à 10 kDa (soit une taille de pores d'environ 2 nm). Suite à cette filtration, les éléments en solution

sont quantifiés par ICP-MS (Perkin Elmer Nexlon 300X ; 3 répétitions analytiques). Le standard international SLRS-6 (National Research Council of Canada) a été utilisé comme standard ICP-MS car il contient du Si, Al et Fe dissous.

Chaque synthèse est réalisée dans un volume de 150 mL. La méthode de coprécipitation de nanoCLICs est issue du protocole de Tamrat et al., (2018). La concentration de Al+Fe est égale à 1700-1800  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  pour toutes les synthèses, conformément à Tamrat et al, 2019. Le  $\text{FeCl}_3.6\text{H}_2\text{O}$  et/ou  $\text{AlCl}_3.6\text{H}_2\text{O}$  sont dilués dans une solution à pH=2 (solution d'acide nitrique). Les solutions d'altération de labradorite ou de basalte sont diluées et le pH est ajusté à 2 avec de la soude (NaOH 5M). Ensuite, le processus de coprécipitation consiste en un titrage de la solution d'altération avec de la soude (NaOH 0,2 M) jusqu'à un pH de 6,3 (pH identique au sol en forêt, horizon 10-15 cm, Chapitre 1). Les titrations sont réalisées sous agitation et thermostatées à 25°C avec un ajout de soude constant de 60  $\mu\text{L.min}^{-1}$  (automatic titrator 785 DMP Titrino Metrohm). Au terme de la titration d'une solution de  $\text{HNO}_3$  avec du NaOH, il se forme des sels de  $\text{NaNO}_3$  lors du séchage. Ces sels sont rincés par filtration à flux tangentiel (TFF) à 10 kDa. Ensuite, 1 à 2 ml contenant les coprécipités formés sont conservés en liquide et le reste est séché à 30 °C. La solution éliminée par le rinçage, riche en sels de  $\text{NaNO}_3$  (perméat de TFF), est analysée par ICP-OES (Agilent 5800 VDV ; 3 répétitions analytiques ; standard SLRS-6) afin de quantifier les éléments qui n'ont pas coprécipités. La quantité de C résiduel de cette même solution est analysée par un TOC-L CSH Shimadzu.

### 4.9.3. Caractérisation minéralogique et chimique des nanoCLICs

La minéralogie des nanoCLICs synthétiques et naturels est analysée en poudre libre par diffraction des rayons X (Philips P3710 X-ray diffractomètre, Co-K $\alpha$  radiation à 40 kV et 40 mA ;  $\lambda = 1.79 \text{ \AA}$ ). Les analyses sont faites sur un support en silicium et les diffractogrammes sont acquis avec un temps de comptage de respectivement, 162 s par 0.026 ° sur une gamme d'angles 2 $\theta$  de 2-75°.

La caractérisation des liaisons chimiques des nanoCLICs synthétiques et naturels est faite par *Fourier-Transformed Infrared – Attenuated Total Reflectance* (MIR-ATR ; Thermo Nicolet IS10, détecteur MCT, source Eever-Glo et un séparateur de faisceau KBr/Ge). Plus de détails sur les équipements sont disponibles dans Delcourt et al. (2019). Les données sont acquises de 4000 à 650  $\text{cm}^{-1}$  avec une résolution de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Pour chaque échantillon, 3 répétitions analytiques sont mesurées, dont chacune est une acquisition de 100 scans. Le background de l'air a été soustrait de toutes les acquisitions. Les spectres sont normalisés par la méthode *Standard Normal Variate* (SNV).

Afin de caractériser les éléments présents dans les nanoCLICs naturels, une extraction élémentaire totale est faite par fusion alcaline : 100 mg de nanoCLICs secs sont mélangés à 500 mg de lithium tétraborate, puis chauffé à 1000°C. La fusion est ensuite diluée dans 50 mL d'acide nitrique (3,5 %). Cette solution est ensuite diluée par 20 dans de l'acide nitrique (2 %) et analysée par ICP-OES (Agilent 5800 VDV ; 3 répétitions analytiques ; standard SLRS-6) afin de quantifier les éléments en solution. La quantité de C total des

nanoCLICs naturels est quantifiée par combustion sèche (CN analyseur ; 3 répétitions analytiques).

#### **4.9.4. Caractérisation de la spéciation et cartographie du C, Fe et Al des nanoCLICs**

Les nanoCLICs naturels séchés à 30 °C, ont été légèrement réhumidifiés avec de l'eau ultrapure afin d'obtenir une texture pâteuse. Le mélange a immédiatement été congelé dans de l'azote liquide, puis des coupes de 400 nm d'épaisseur ont été réalisées à froid avec un cryo-ultramicrotome Leica UC7 (couteau en diamant). Les coupes ont ensuite été déposées sur des grilles de microscopie Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> (75nm .1x.1mm 100µm ; AGS172-3T @oxford instruments) et séchées à l'air. Les nanoCLICs synthétiques conservés en solution ont été dilués par 50 ou 100. Environ 5 µL ont été déposés sur des grilles de microscopie Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> (75nm .1x.1mm 100µm).

Les analyses de la spéciation du C par *Scanning transmission X-ray microscopy* (STXM) sont faites au synchrotron SOLEIL (France) sur la ligne HERMES. Cette technique STXM utilise une source de rayon X monochromatique focalisée à 30 nm par une lentille de Fresnel (aussi appelée *zone plate*). Un tube photomultiplicateur est placé derrière l'échantillon pour détecter les photons transmis. La lentille de Fresnel a été nettoyée avant le début des analyses afin de limiter les contaminations en C. La calibration en énergie a été réalisée pour le C (mesure de CO<sub>2</sub>, 2 mbar) et le Fe (oxyde de Fe).

Les nanoCLICs synthétiques sont homogènes spatialement à l'échelle nanométrique (Cam et al., in prep), les cartographies acquises sont donc peu résolues spatialement. Au seuil du C, les photons transmis sont détectés tous les 500 nm sur une distance latérale et verticale de 5 µm. Le temps d'analyse est fixé à 5 ms tous les 500 nm afin de limiter les dommages du faisceau. Le background (I<sub>0</sub>) est analysé plusieurs fois durant la période d'acquisition des données (un fois par jour). Le seuil K du C est analysé avec un pas de 1 eV entre 274 et 281 eV, 0,125 eV entre 282,125 et 292 eV, de 0,353 eV entre 292 et 310 eV, puis de 1,12 eV entre 382,12 et 330 eV.

Les nanoCLICs naturels étant hétérogènes aux nano-échelles (Chapitre 4A), ils sont analysés avec des cartographies résolues spatialement. Au seuil du C, du Fe de l'Al, les photons transmis sont détectés tous les 50 nm sur une distance latérale et verticale de 5 µm. Le temps d'analyse est fixé à 3 ms (pour le seuil du C et du Fe) ou 5 ms (pour le seuil de l'Al) tous les 50 nm afin de limiter les dommages du faisceau. Les nanoCLICs naturels sont analysés en premier au seuil K du C (paramètres de scan : 1 eV entre 274 et 281 eV, 0,125 eV entre 282,125 et 292 eV, 0,353 eV entre 292 et 304 eV, puis 10 eV entre 314 et 334), puis au seuil L du Fe (paramètres de scan : 0,5 eV entre 700 et 705 eV, 0,15 eV entre 705,15 et 712, puis 0,5 eV entre 712,5 et 730 eV) et enfin au seuil K de l'Al (pas de 0,5 eV entre 1570 et 1600 eV). Le background (I<sub>0</sub>) est analysé en même temps que l'échantillon sur une zone adjacente pour tous les seuils.

Les données sont traitées avec le logiciel Axis 2000 (V11 ; <http://unicorn.mcmaster.ca/aXis2000.html>). Les spectres sont normalisés en utilisant le logiciel Athena (V0.9.26 ; Ravel and Newville, 2005).

## 4.10. Résultats et discussion

### 4.10.1. Caractérisation des nanoCLICs naturels

#### 4.10.1.1. Caractérisation chimique et minéralogique des fractions fines d'andosols

Le bilan élémentaire des fractions fines des deux sols est en majorité composé de C, Al, Si et Fe (Figure 1). Du Ca et Mg sont également présent mais en faible quantité. Entre le sol en forêt et cultivé, le bilan élémentaire est identique pour les éléments Si, Fe, Ca et Mg. Comparé au sol en forêt, le sol cultivé comporte moins de C et un peu plus d'Al. Les diffractogrammes analysés par DRX ont permis de détecter quelques phases cristallines (gibbsite, tridymite et quartz) et des bandes de diffusion associées à des phases mal-cristallisées ou amorphes (Figure 2A ; cf Chapitre 2). Les spectres analysés par MIR (Figure 2B) ont des bandes de vibration attribuées aux vibrations O-H de l'eau résiduelle (entre 3700 et 3100 et à 1630  $\text{cm}^{-1}$ ), des liaisons C-O, C-C ou C=O attribuées à des molécules organiques (1625, 1400 et 790  $\text{cm}^{-1}$ ) et des liaisons Al-O, Si-O-Si, Si-O-Fe, et O-H attribuées à des phases minérales potentiellement cristallisées, mal-cristallisées ou amorphes (1000, 930 et 790  $\text{cm}^{-1}$ ). Par leur forte teneur en C, Al et Si dans une phase pas ou peu cristalline et suivant les analyses de microcopie effectuée en partie 2 et 4, ces fractions fines semblent concentrer les nano-phases d'andosol en forêt et cultivé dont les coprécipités-nanoCLICs.

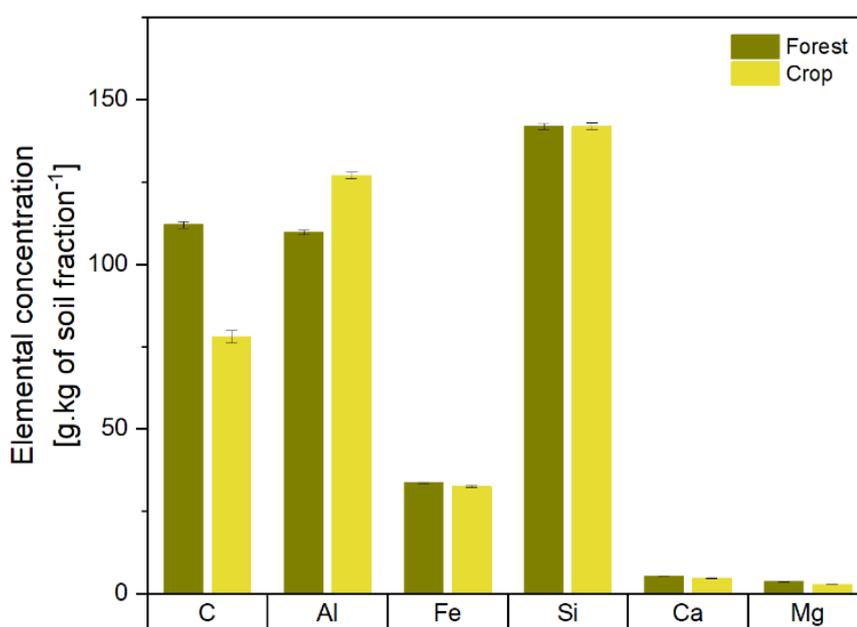


Figure 1. Bilan élémentaire des fractions fines du sol en forêt et cultivé. Les éléments Al, Fe, Si, Ca et Mg sont analysés par ICP-OES suite à une fusion alcaline. Le C total est estimé par combustion solide. La barre d'erreur est l'écart-type de 3 répétitions analytiques.

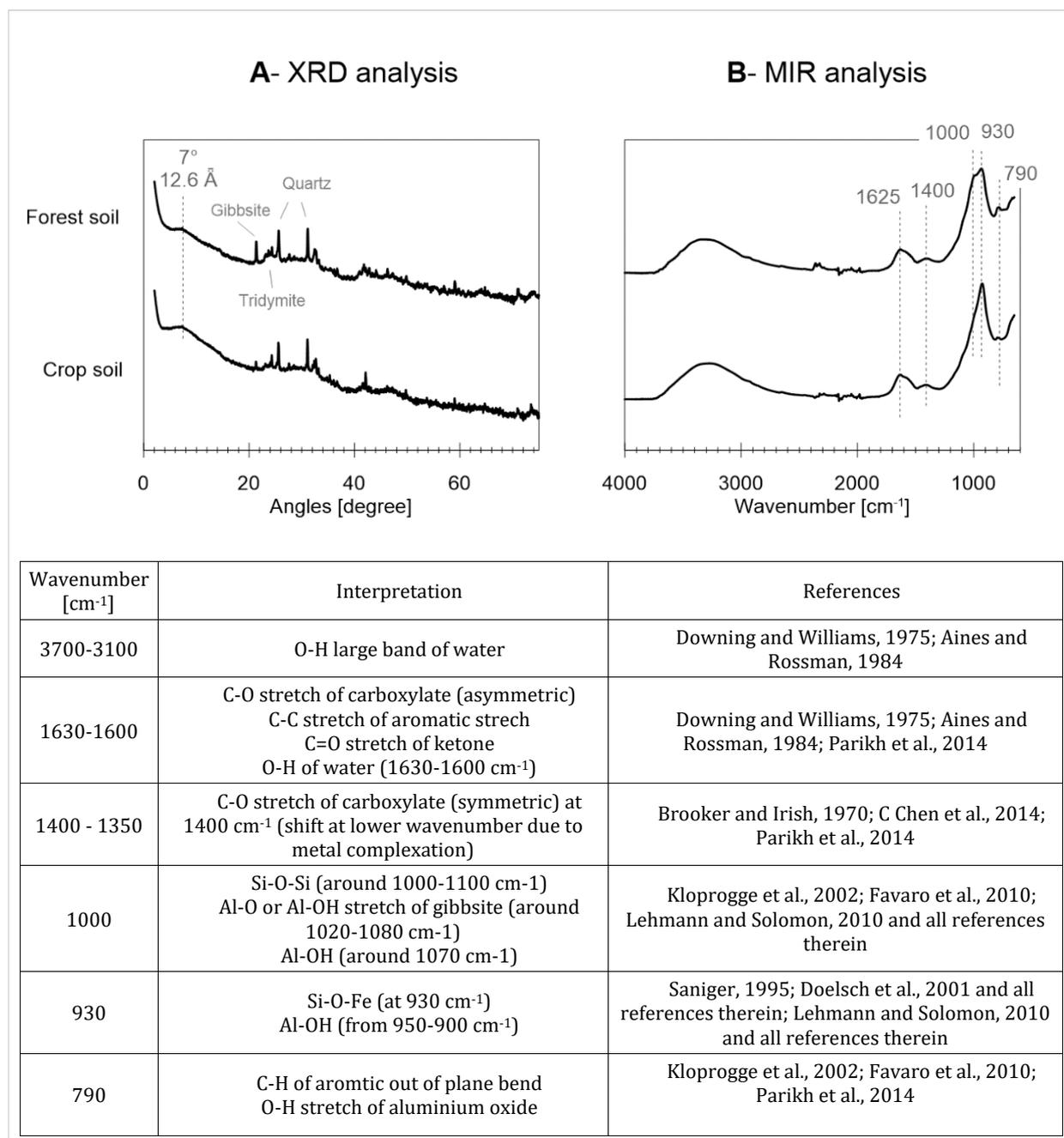


Figure 2. Caractérisation de la minéralogie par DRX et des liaisons chimiques par MIR des fractions fines du sol en forêt et cultivé. Le tableau synthétise l'interprétation des bandes de vibration détectées par MIR. Diffractogrammes en échelle logarithmique de base 10.

#### **4.10.1.2. Analyse de la spéciation du C des nanoCLICs naturels**

Les cartographies élémentaires de C, Fe et Al (Figure 3) sont réalisées sur une zone d'environ 4x4  $\mu\text{m}$  avec un pixel d'acquisition de 50x50 nm. Pour les deux sols, le C est détecté dans l'ensemble des zones analysées (Figure 3A et E). Le Fe est détecté de deux manières : de manière diffuse et répartie sur l'ensemble de la zone étudiée (spectre détecté mais densité optique faible par endroit, non montré ici) mais aussi sous forme de clusters dont la taille est comprise entre 100x100 et 500x500 nm (Figure 3B et F). La détection de l'Al est similaire à celle du C c'est à dire répartie dans l'ensemble des zones analysées (Figure C et G). Pour les deux sols, sous forêt et cultivé, la colocalisation du C, du Fe et de l'Al est vérifiée (Figure 3D et H). Ces colocalisations sont hétérogènes aux échelles étudiées. Une colocalisation de C-Al semble majoritaire, mais certaines zones ont une colocalisation C-Fe ou de C-Fe-Al. Ces résultats sont cohérents avec les analyses effectuées par STEM-EDX et STEM-EELS montrés en Chapitre 4A.

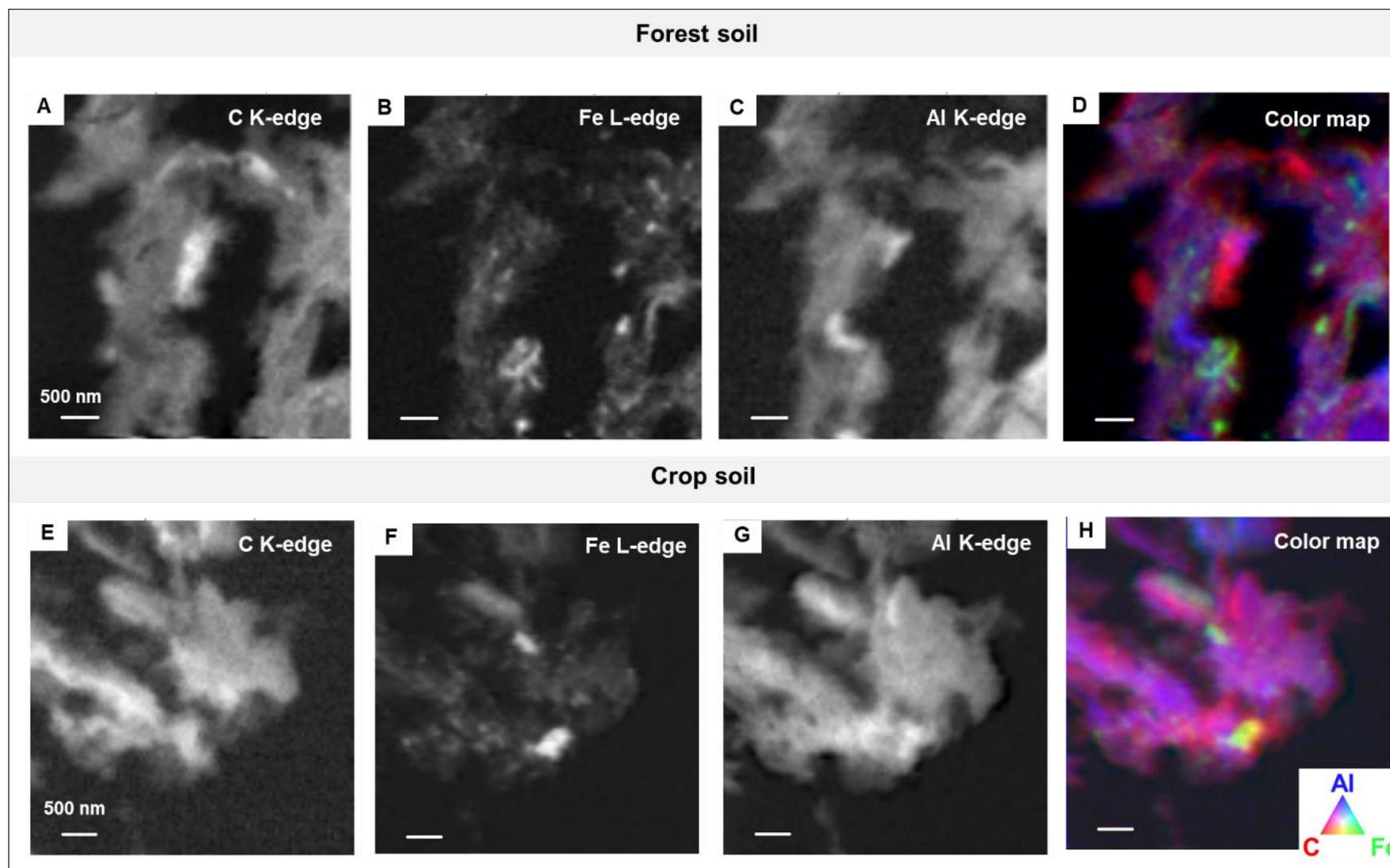


Figure 3. Cartographie chimique des éléments C, Fe et Al des fractions fines du sol en forêt et cultivé par STXM. La cartographie du C est réalisée par soustraction des cartes entre les énergies 291.35 (après le seuil d'absorption) et 275 eV (avant le seuil d'absorption), pour le Fe entre 709.32 et 700 eV, et pour l'Al entre 1588.8 et 1580.2 eV. Les cartographies trois couleurs mettent en avant les colocalisations entre le C, l'Al et le Fe.

La spéciation du C sur les zones comportant du C, de l'Al et peu de Fe, appelée « *representatives area* » (Figure 4 ; Z1 et Z2 des deux sols), est composé de 4 pics majeurs attribués à 285 eV au C aromatique, à 286.6 eV au C phénolique et cétonique, à 288.4 eV au C carboxylique et autour de 290.4 eV au C sous forme carbonyle même si ce dernier pic est difficilement attribuable à une seule espèce (Tableau 1). Le C complexé avec de l'Al, du Si et peu de Fe comporte donc une spéciation très diverse. Dans certaines zones riches en Fe ou en Fe-Al (zone B1 et C1 du sol en forêt), la spéciation du C présente les mêmes pics mais leurs intensités est variable (par exemple, une plus faible intensité du pic à 286.6 eV attribué au C phénolique et cétonique). Certaines zones ont cependant des spectres assez différents des zones représentatives : (i) des zones riches en C et pauvres en Fe et Al et (ii) des zones riches en C et Fe. Les zones riches en C et pauvres en Fe et Al (A1 et A2), ont une forte contribution des pics à 285 eV et entre 287 et 288.4 eV associés au C aromatique, aliphatique et carboxylique. Dans la zone A1 le pic associé aux C aliphatique et carboxylique est décalé vers des énergies plus basses (288.2 eV). Les zones riches en C et Fe (B1 et B2 du sol cultivé) ont une spéciation avec deux contributions majeures autour de 285 et 288.4 eV attribués aux C aromatique et carboxylique. Les pics à 286.6 et 290 eV ne sont plus détectables. Le pic associé au C carboxylique à 288.4 eV est décalé à plus basse énergie (287.9 eV) pour la zone B1 du sol cultivé.

Tableau 1. Interprétation des groupements fonctionnels du C détectés au seuil K d'absorption du C. Tableau issu de Wan et al., (2007) à partir des publications suivantes : Francis and Hitchcock, 1992; Cody et al., 1998; Boyce et al., 2002; Benzerara et al., 2004, 2005; Lehmann et al., 2005; Schumacher et al., 2005. En accord avec les publications de Schäfer et al. (2003) et Le Guillou et al. (2018).

<b>Energy range [eV]</b>	<b>Interpretation</b>
283.7-284.3	Quinonic C=O, protonated aromatic
284.9-285.5	Aromatic C=C and C=H
286.5-287.2	Phenolic C-OH and Ketonic C=O
287.1-287.8	Aliphatic C-H
287.7-288.6	Carboxylic C=O and C-OH
288.2	Amide-carbonyl C=O
290.2-290.5	Carbonyl C=O

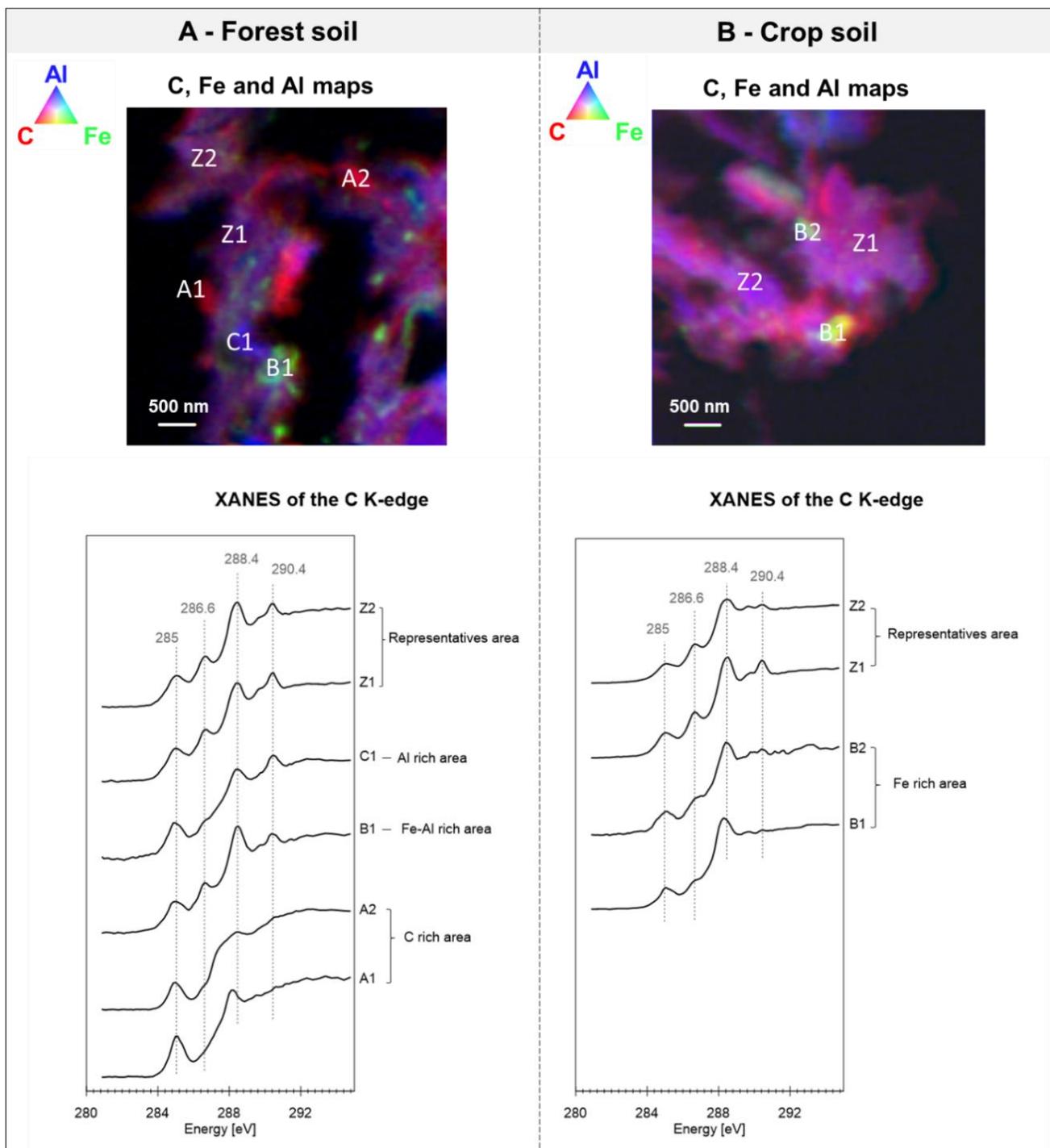


Figure 4. Cartographies chimiques (Al, Fe et C) et spectres XANES du seuil K du C des fractions fines du sol en forêt et cultivé. Les spectres choisis sont issus de différentes zones : Z1 et Z2 caractérisées par la colocalisation de C et Al appelés « representative area » ; C1 pour des zones riches en Al ; B1 et B2 pour des zones riches en Fe et Al ou riches en Fe ; et A1 et A2 pour les zones riches en C avec un peu de colocalisation avec de l'Al et du Fe.

Les spectres globaux des deux zones analysées du sol sous forêt et cultivé sont similaires (Figure 5). Sur les zones analysées, la spéciation du C n'a pas de distinction notable en fonction de l'utilisation du sol. La spéciation du C acquise sur d'autres sols et fractions fines de sols, mets en avant des bandes/pics à des énergies similaires à 285, 286.7 et 288.4 eV. A l'échelle globale, la spéciation du C des sols n'est pas très différentes d'autres sols. Mais à l'échelle locale, la spéciation du C est hétérogène et semble varier en fonction de l'environnement chimique du C ici abordée à travers la colocalisation du C avec les éléments présents dans les différentes zones : C-Al-Si (pauvre en Fe) appelées « representative area », les zones riches en C et pauvre en Fe et Al et les zones riches en C et Fe. Le décalage en énergie du pic à 288.4 eV vers des énergies plus basses observé pour une zone C-Fe (B1 du crop soil) peut s'expliquer par une complexation de la fonction carboxyle avec un cation métallique (Curti et al., 2021; Zhao et al., 2022) ou par une spéciation du C différente localement avec davantage de liaisons C=O de groupements carboxyle-amide (Tableau 1). Au vu de la variabilité de la spéciation du C possible dans les sols, l'influence des colocalisations doit être analysée/reproduite en système synthétique.

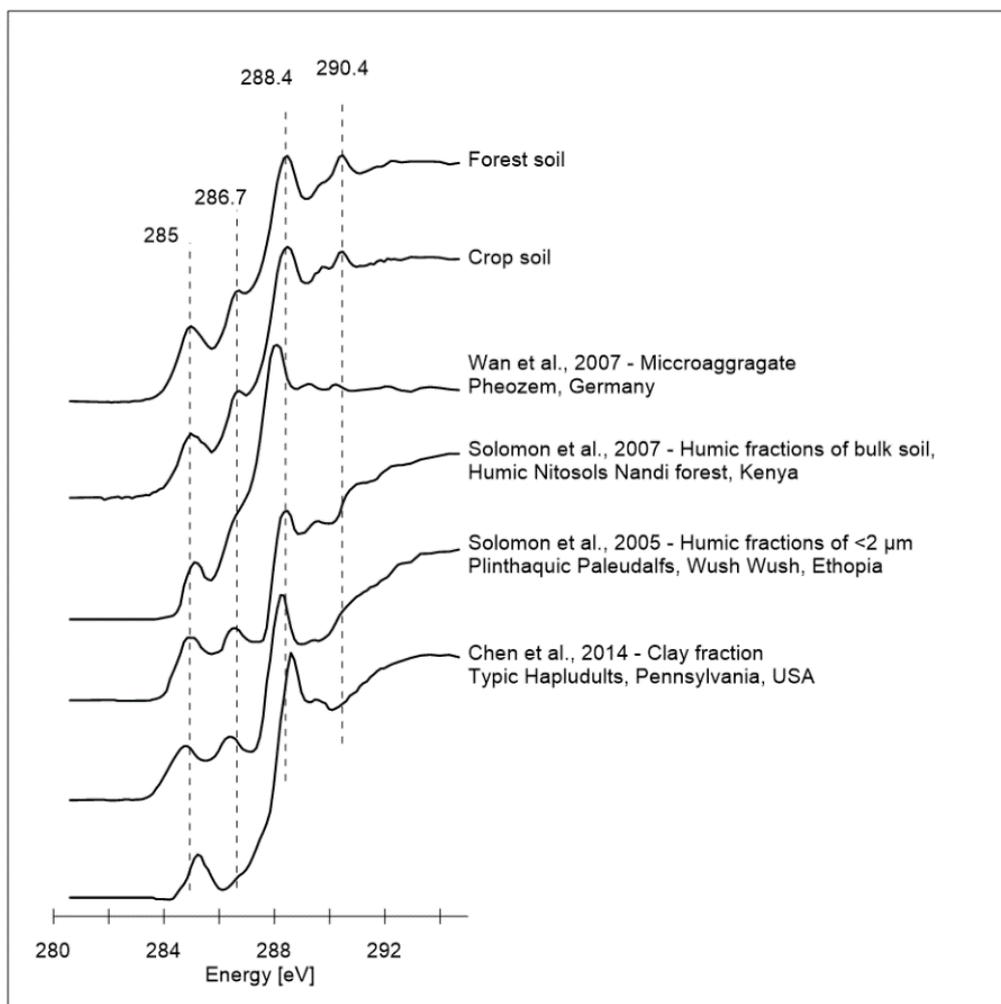


Figure 5. Spectre XANES de l'ensemble de la zone analysée du sol en forêt et cultivé comparé à des spectres de sols et fractions fines issus de Solomon et al., 2005 et 2007, Wan et al., 2007 et Chen et al., 2014. Spectres extraits graphiquement avec DataThiefIII et normalisés.

## 4.10.2. Caractérisation des nanoCLICs synthétiques

### 4.10.2.1. Caractérisation chimique et minéralogique des nanoCLICs synthétiques

Le bilan de précipitation élémentaire indique que la presque totalité du C en solution a précipité (93 à 97 %) dans toutes les modalités (Figure 6). L'Al, le Fe et le Si présents en solution ont aussi précipité (96 à 100 % pour l'Al et Fe et 72 % pour le Si) dans toutes les modalités<sup>h</sup>. Dans la synthèse Al-Si-nanoCLICs, le Ca et le Mg présent dans la solution initiale, n'a pas ou peu précipité (respectivement 7 et 15%). Dans la synthèse Fe-Al-Si-Mg-nanoCLICs, le Ca n'a pas ou peu précipité (9%) mais le Mg a en partie précipité (18%). Aussi dans cette dernière modalité, la quantité de Si précipité est faible. Ce bilan élémentaire nous permet d'attester une précipitation de la DOPA avec du Fe, Al, Al-Fe, Al-Si et Fe-Al-Si-Mg.

La minéralogie de la DOPA seule et de tous les coprécipités a été analysée par diffraction des rayons X (DRX ; Figure 7A). Le diffractogramme de la DOPA seule comporte de nombreux pics, mais lorsqu'elle est coprécipitée avec un ou plusieurs éléments inorganiques, seuls des pics de diffraction attribués à des sels ( $\text{NaNO}_3$ ) restent visibles ainsi que des bandes de diffusion autour de 4-6°, 35 et 42°. Aucun pic n'est attribué à des phases minérales cristallines. Ce qui confirme l'arrangement de ces coprécipités en phases mal-cristallisées ou amorphes quels que soit les éléments coprécipités. Les sels sont issus de la titration de la solution contenant de l'acide nitrique ( $\text{HNO}_3$ ) avec de la soude ( $\text{NaOH}$ ). Malgré le rinçage par filtration tangentielle, ces sels sont toujours présents.

L'analyse de la DOPA seule par MIR-ATR comporte beaucoup de pics attribués à des liaisons organiques (Figure 7B). Les vibrations de ces liaisons ne sont plus présentes

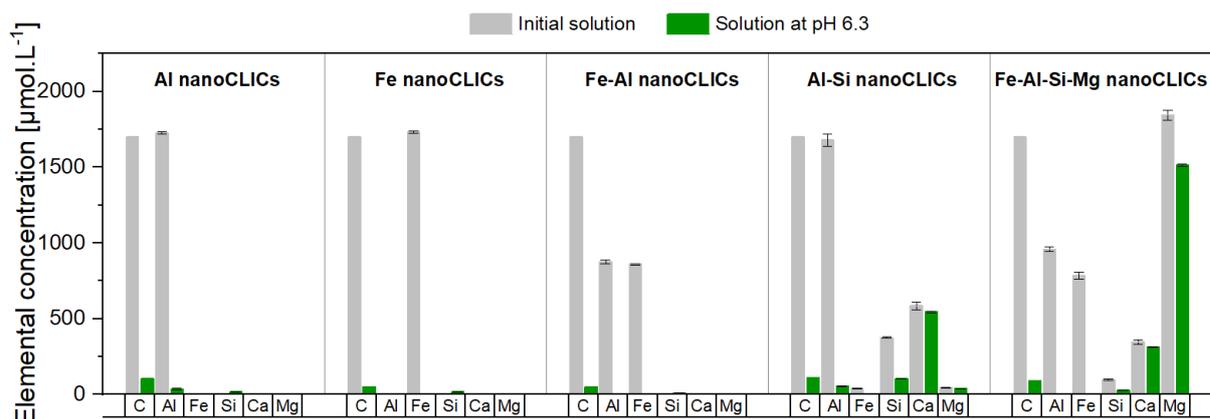


Figure 6. Bilan élémentaire des nanoCLICs synthétiques. Ce bilan élémentaire est représenté en quantité d'éléments dans la solution avant et après coprécipitation.

<sup>h</sup> Pour les modalités Al-Si-nanoCLICs et Fe-Al-Si-Mg-nanoCLICs, la solution initiale est issue de l'altération chimique de labradorite ou de basalte respectivement. Les proportions atomiques de la solution analysée sont issues d'une dissolution minérale incongruente. C'est pour cela, que les éléments en solution ne reflètent pas les proportions atomiques théoriques du minéral ou de la roche altérée. Des résultats similaires sont observés par Tamrat et al., 2018 et 2019.

lorsque la DOPA est coprécipitée. Les liaisons chimiques détectées dans les coprécipités sont assez similaires quels que soient les éléments coprécipités et sont attribués comme suit (Tableau 2) : aux liaisons O-H de l'eau résiduelle (entre 3700 et 3100 et à 1630  $\text{cm}^{-1}$ ), aux liaisons organiques C-O, C=C ou C=O de la DOPA (1625 et 1400  $\text{cm}^{-1}$ ) et aux liaisons inorganiques Al-OH et Si-O-Fe de phases mal-cristallisées ou amorphes (930  $\text{cm}^{-1}$ ) et aux liaisons des sels de  $\text{NaNO}_3$  (1380-1850  $\text{cm}^{-1}$  et 835  $\text{cm}^{-1}$ ).

Ces analyses confirment une coprécipitation de la DOPA avec de l'Al, Fe, Fe-Al, Al-Si et Fe-Al-Si-Mg. Aussi, les coprécipités obtenus ont peu ou pas d'ordre cristallin (par DRX). Par ces analyses et par le protocole de synthèses des coprécipités similaire à celui de Tamrat et al (2019), nous supposons que le mélange élémentaire entre le C et l'Al et/ou Fe, Si et Mg des coprécipités obtenus soit sous forme nanoCLICs.

Tableau 2. Interprétation des bandes de vibrations détectées par MIR-ATR de la DOPA et des coprécipités synthétiques.

Wavenumber [ $\text{cm}^{-1}$ ]	Interpretation	References
3700-3100	O-H large band of water	Downing and Williams, 1975; Aines and Rossman, 1984
1610-1600	C-O stretch of carboxylate (asymmetric) C-C stretch of aromatic stretch C=O stretch of ketone O-H of water (1630-1600 $\text{cm}^{-1}$ )	Parikh et al., 2014 Downing and Williams, 1975; Aines and Rossman, 1984
1400 -1350	C-O stretch of carboxylate (symmetric) at 1400 $\text{cm}^{-1}$ (shift at lower wavenumber due to metal complexation) NO <sub>3</sub> residual salt (asymmetric stretching mode $\nu_3$ , from 1380-1850 $\text{cm}^{-1}$ ).	Chen et al., 2014; Parikh et al., 2014 Brooker and Irish, 1970; Ehrhardt et al., 2005
930	Si-O-Fe (at 930 $\text{cm}^{-1}$ ) Al-OH (from 950-900 $\text{cm}^{-1}$ )	Doelsch et al., 2001 (and all references therein) Saniger, 1995 Lehmann and Solomon, 2010 (and all references therein)
835	NO <sub>3</sub> residual salt (asymmetric stretching mode $\nu_3$ )	Brooker and Irish, 1970

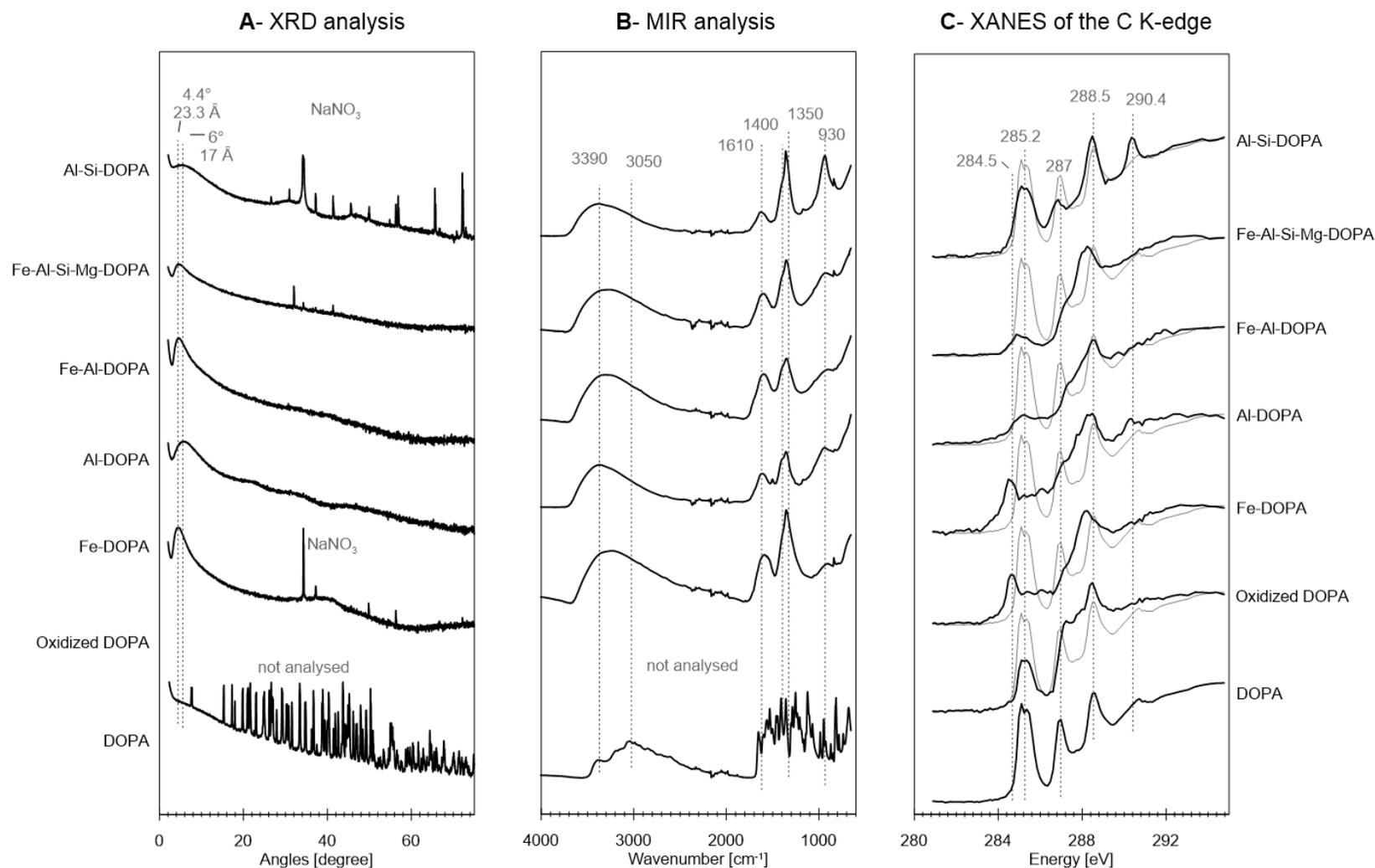


Figure 7. Caractérisation de l'ordre cristallin, des liaisons chimiques et de la spéciation du C des synthèses de nanoCLICs. Caractérisation de l'ordre cristallin par DRX (A), caractérisation des liaisons chimiques par MIR-ATR (B) et caractérisation de la spéciation du C par analyse STXM-XANES (B). Les diffractogrammes sont présentés en échelle logarithmique (base 10). Les spectres XANES sont normalisés. Le spectre XANES de la DOPA (non oxydée) est figuré en couleur grise afin de mieux visualiser les différences lorsque la DOPA est oxydée ou coprécipitée.

## 4.10.2.2. Analyse de la spéciation du C des nanoCLICs synthétiques

### Analyse de la DOPA

Les nanoCLICs synthétiques obtenus sont de couleur brun sombre (image par loupe binoculaire en Chapitre 5), alors que la DOPA ajoutée avant coprécipitation est de couleur blanche. La couleur brun sombre peut être liée à l'état d'oxydation d'une partie de la DOPA, c'est pourquoi de la DOPA non oxydée et oxydée est analysée (oxydation dans de l'eau ultrapure). Le spectre XANES de la DOPA, décomposé par des gaussiennes (Figure 8), comporte des pics à 285.3 eV attribués au C aromatique, à 287-287.1 eV attribué au C aliphatique, à 287.8 eV attribué au C aliphatique et/ou carboxylique et à 288.5 eV au C carboxylique (Tableau 1). Le spectre XANES de la forme oxydée de la DOPA possède les mêmes pics mais l'intensité du pic aromatique (285.3 eV) diminue alors que le pic assimilé au C aliphatique et/ou carboxylique (287.8 eV) augmente (Figure 8). Suivant Zhou et al., (2012), plusieurs formes de DOPA oxydée peuvent être présentes dans l'eau. Discerner ces formes oxydées par l'analyse du XANES est difficile puisque les différences de spéciation du C sont faibles. Il est également possible que diverses formes de DOPA oxydée soient présentes dans l'échantillon oxydé, et notamment sous forme de dopachrome qui possède une liaison C=N et qui pourrait induire l'épaulement figuré par le symbole ▲ en Figure 6.

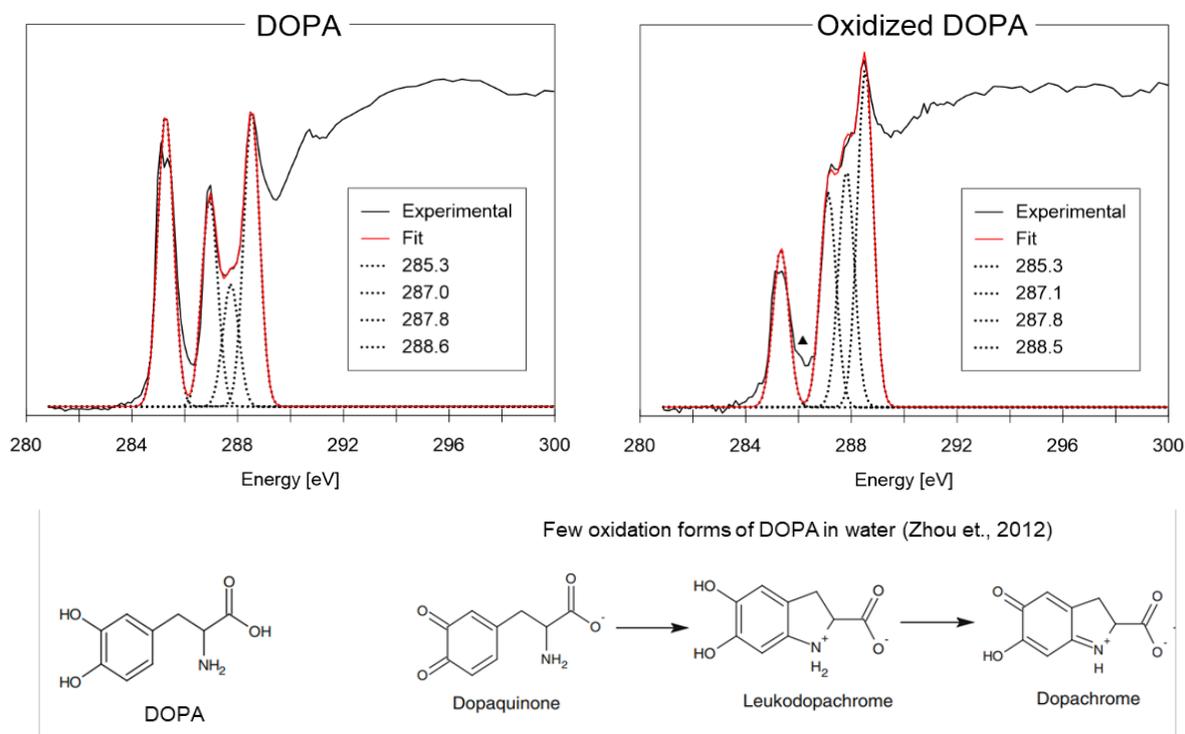


Figure 8. Analyse du XANES de la DOPA et de la DOPA oxydée. Des gaussiennes (de même largeur à mi-hauteur) sont calculées afin de faciliter l'interprétation liée à l'oxydation. Le symbole ▲ localise un épaulement de pic à 285.9 eV qui n'est modélisé par une gaussienne individuelle. La molécule de DOPA non oxydée et quelques formes oxydées dans de l'eau (issu de Zhou et al. 2012) sont représentées.

### ***Coprécipitation de la DOPA avec Fe ou Al***

L'analyse de la spéciation du C des nanoCLICs Al-DOPA et Fe-DOPA n'est pas identique à celle de la DOPA ni à la DOPA oxydée (Figure 7C). Entre la DOPA oxydée et ces deux synthèses, la spéciation du C comporte deux changements qui pourraient provenir de la complexation de fonctions chimiques avec du Fe ou de l'Al. Le premier changement est un décalage en énergie du pic à 288.5 eV de -0.35 eV pour les nanoCLICs Fe-DOPA et de -0.25 eV pour les nanoCLICs Al-DOPA. Un décalage vers les énergies plus basses de la fonction carboxyle peut être dû à la complexation de cette fonction avec un cation métallique (Curti et al., 2021; Zhao et al., 2022). Le deuxième changement est un décalage vers les énergies plus faibles de la fonction catéchol (à de 285.3 à 284.5 eV, soit -0.8 eV). Ce décalage peut avoir deux origines : il peut être induit par l'oxydation de la fonction catéchol en quinone car le C sous forme de quinone est détectable entre 283.7 et 284.3 eV. Mais il peut être aussi induit par une complexation de la fonction catéchol avec un cation métallique (Cervini-Silva et al., 2008). Un cation métallique peut complexer une à trois fonctions catéchol (Lim et al., 2014).

Sur la base de ces observations, l'interaction de la DOPA avec les cations métalliques dans les nanoCLICs, peut être expliquée par une liaison covalente entre une fonction chimique (carboxyle et catéchol) et un cation métallique. Le ratio atomique C/Fe ou C/Al des nanoCLICs est de 1, mais puisque la molécule de DOPA comporte 2 sites réactifs détectés (carboxyle et catéchol), le ratio sites réactifs/Fe et sites réactifs/Al est inférieur à 1. L'excès de Fe et d'Al par rapport aux sites réactifs de la DOPA pourrait induire un piégeage de la DOPA dans des structures amorphes ou mal-cristallisées de Fe ou d'Al.

### ***Coprécipitation de la DOPA en présence de plusieurs éléments inorganiques***

La spéciation du C des nanoCLICs Fe-Al-DOPA ne présente pas le décalage en énergie de la fonction carboxyle (288.5 eV) observée pour les nanoCLICs Al-DOPA ou Fe-DOPA (Figure 7C). Lorsque la DOPA est coprécipitée avec Fe-Al-Si-Mg, le décalage en énergie de la fonction carboxyle est de -0.35 eV. Un décalage identique à celui des nanoCLICs Fe-DOPA. Ainsi, la présence de Si ou de Mg pourrait influencer la disponibilité de l'Al dans le mécanisme de coprécipitation. De plus, les nanoCLICs Fe-Al-DOPA et Fe-Al-Si-Mg-DOPA n'ont pas de décalage en énergie de la fonction catéchol (285.3 eV) mais une baisse d'intensité de cette fonction comparée à la DOPA oxydée. Cette baisse d'intensité est déjà observée entre DOPA et la DOPA oxydée, et est encore plus forte pour les nanoCLICs Fe-Al-Si-Mg. La raison de cette baisse d'intensité nous est, à ce jour, inconnue.

La spéciation des nanoCLICs Al-Si-DOPA est différente des autres nanoCLICs synthétiques. La spéciation comporte 4 pics bien définis similaires à ceux de la DOPA non oxydée. Ces pics sont assez étroits comme ceux de la DOPA non oxydée. Toutefois l'intensité des pics à 285.2 et 287 eV est plus faible que les pics de la DOPA. Les pics à 285.2 et 288.5 eV n'ont pas de décalage vers des énergies plus basses, ce qui traduit l'absence de liaison entre les fonctions catéchol et carboxyle avec un cation métallique. Aussi, il est possible que l'état d'oxydation de la DOPA coprécipitée dans les nanoCLICs Al-Si-DOPA soit différent des autres synthèses.

### **4.10.3. Influences des éléments inorganiques sur la spéciation du C**

#### **4.10.3.1. Des ressemblances entre nanoCLICs naturels et synthétiques**

La spéciation du C de la molécule de DOPA, des nanoCLICs naturels et d'autres sols ou fractions de sols comporte des pics à des énergies similaires (Figure 5). Les fonctions chimiques portées par la DOPA sont donc des fonctions retrouvées dans les sols et dans les coprécipités-nanoCLICs.

A l'échelle locale, les nanoCLICs naturels et synthétiques, comportant les mêmes éléments, ont des ressemblances de spéciation du C (Figure 9) :

- La spéciation du C dans les zones riches en Al et Si (et pauvre en Fe) des nanoCLICs naturels et des nanoCLICs Al-Si-DOPA (Figure 9A) comporte 4 pics distincts aux mêmes énergies : 285-285.2, 286.8, 288.5 et à 290.4 eV. L'intensité de ces pics peut être variable (pic à 285-285.2 eV plus faible pour les sols) tout comme la largeur des pics (pic à 288.4 eV plus large pour les sols).
- Une autre 'ressemblance' de spéciation du C est observée entre les zones riches en C et Fe des nanoCLICs naturels et les nanoCLICs Fe-DOPA et Fe-Al-Si-Mg-DOPA (Figure 9B). Une ressemblance par leurs pics à des énergies similaires mais aussi par l'intensité similaire de ces pics à 285.2, 287 et à 288.5 eV.

Ces 'ressemblances' de spéciation du C entre nanoCLICs naturels et synthétiques indiquent que les éléments inorganiques Al-Si ou Fe impactent la spéciation du C. Cependant, les mécanismes exacts induisant les différences de spéciation du C entre les zones Al-Si-C et Fe-C nous sont inconnus à ce jour.

#### **4.10.3.2. Nature des interactions entre les MO et les éléments inorganiques**

Les synthèses de nanoCLICs réalisées apportent aussi des clefs de compréhension mécanistique. Ces synthèses ont, en partie, une interaction entre des fonctions chimiques (carboxyle, catéchol) et un cation métallique (Al et Fe), observée par des décalages en énergie. Certaines zones des nanoCLICs naturels comportent des décalages similaires :

- Un décalage en énergie est observé pour la fonction carboxyle (288.5 eV) dans la zone B1 du sol cultivé, ce qui pourrait être lié à une liaison entre le Fe et la fonction carboxyle, comme analysé pour les nanoCLICs Fe-DOPA.
- Aussi, les zones Al-Si-C du sol en forêt et cultivé ont un pic du C à 285 eV alors la fonction catéchol de DOPA à un pic à 285.2 eV et la fonction catéchol potentiellement complexé a de l'Al et du Fe a un pic à 284.5 eV. La position

intermédiaire à 285 eV du sol en forêt et cultivé pourrait être attribué à une complexation de C aromatique/catéchol/quinone à un cation métallique.

Ainsi, dans les nanoCLICs synthétiques et naturels, les décalages en énergies pourraient indiquer des liaisons covalentes entre des fonctions catéchol et carboxyle avec des cations métalliques. La présence ou l'absence de certaines fonctions chimiques pourraient influencer la persistance de ces molécules organiques dans les sols tout comme le ou les types d'éléments inorganiques présents. Néanmoins, les shifts observés (indiquant l'association d'une fonction chimique et d'un cation métallique) sont partiels. Une partie de ces fonctions chimiques n'a pas réagi avec un métal. Le mécanisme de coprécipitation du C dans les sols pourrait être le produit d'une interaction cation métallique-fonction chimique et d'un piégeage des molécules organiques. Toutefois, les décalages en énergie pourraient être aussi le résultat de différents états d'oxydation de la DOPA, l'analyse des données doit être approfondit afin de clarifier les interprétations.

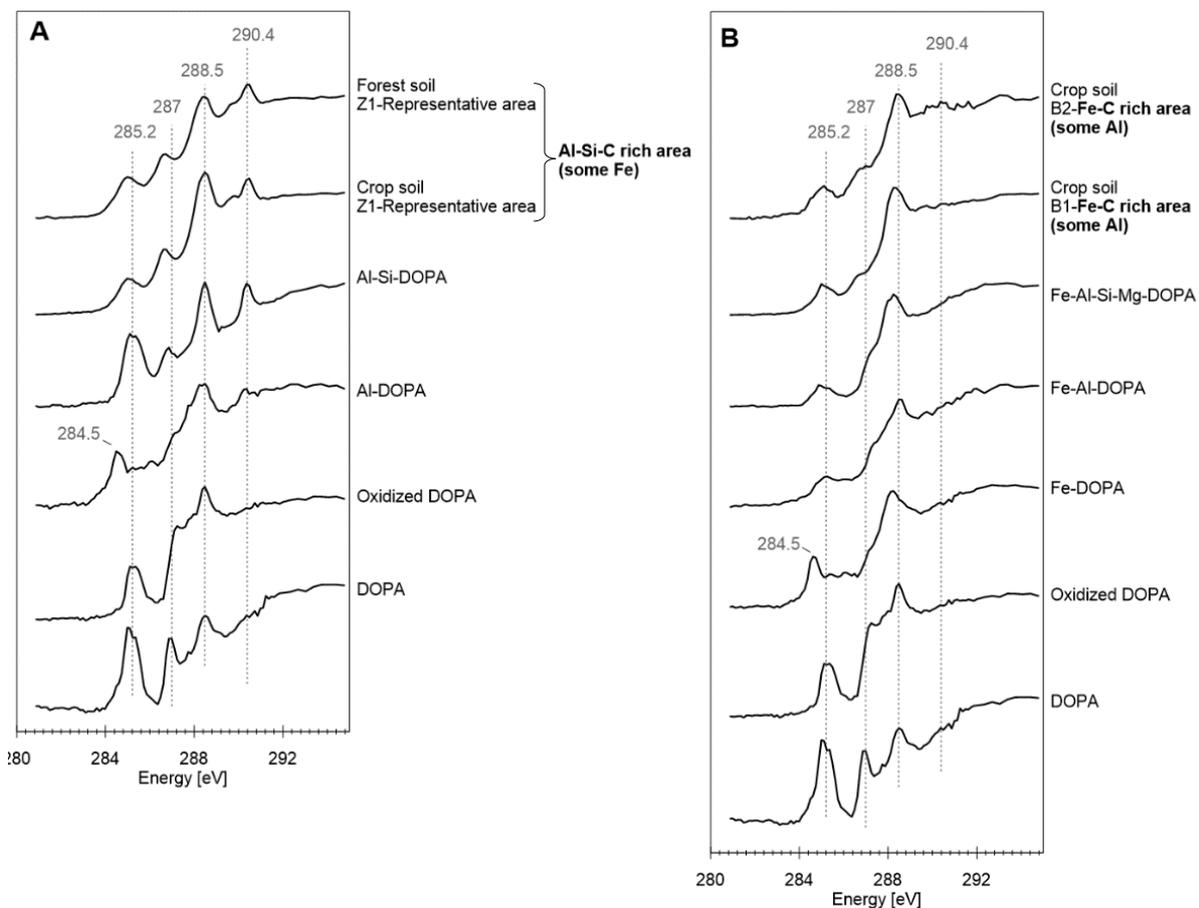


Figure 9. Comparaison de la spéciation du C des nanoCLICs naturels et synthétiques. Les nanoCLICs synthétiques et les zones de nanoCLICs naturels comportant majoritairement de l'Al ou de l'Al-Si sont représentées sur le panneau A. Les nanoCLICs synthétiques et les zones de nanoCLICs naturels comportant majoritairement du Fe, Fe-Al, Fe-Al-Si sont représentés sur le panneau B.

Aussi, la présence de certains éléments inorganiques comme le Si ou le Mg pourrait influencer le mécanisme de coprécipitation. Dans d'autres synthèses de nanoCLICs, le Si ne semble pas interagir avec les molécules organiques mais il peut bloquer l'évolution de

structures vers des phases plus cristallines (Tamrat et al., 2019; Lenhardt et al., 2022). Les synthèses de nanoCLICs montrent que la présence de Si et/ou Mg, pourrait influencer la disponibilité de l'Al et ainsi favoriser l'interaction carboxyle-Fe. Un 'effet cocktail' des éléments inorganiques coprécipités pourrait influencer les liaisons entre les cations métalliques et les groupements fonctionnels.

## 4.11. Conclusion

Les cartographies chimiques ont colocalisé le C majoritairement avec de l'Al et peu de Fe. Suivant de précédentes analyses de microscopie (Chapitre 4A), cette colocalisation comporte probablement du Si. La spéciation du C est très diverse dans ces zones et composée de C aromatique, phénolique, cétonique, aliphatique, carboxylique et carbonyle. Cependant certaines zones riches en C et Fe comportent une spéciation du C différente sous forme aromatique et carboxyle en majorité. La coprécipitation synthétique de la DOPA avec différents éléments inorganiques a recréé une partie de ces variations de spéciation du C. Ce qui suggère que les éléments inorganiques influencent la spéciation du C, même si les mécanismes exacts ne sont pas clairement identifiés. Ces synthèses pourraient, en partie, montrer une interaction entre les fonctions chimiques et un cation métallique (Al et Fe) par des shifts en énergie des fonctions carboxyle et/ou catéchol. Mais une partie de ces fonctions ne comporte pas ce shift en énergie. Ainsi, la nature des interactions entre le C et les éléments inorganiques dans les coprécipités-nanoCLICs pourrait être lié à une interaction cation métallique-fonction chimique et à un piégeage des molécules organiques. Mais à ce jour, ces interprétations doivent être approfondies car l'état d'oxydation changeant de la DOPA doit être analysé.

## 4.12. Références bibliographiques

- Aines, R.D., Rossman, G.R., 1984. Water in minerals? A peak in the infrared. *J. Geophys. Res. Solid Earth* 89, 4059–4071. <https://doi.org/10.1029/JB089iB06p04059>
- Arachchige, P.S.P., Hettiarachchi, G.M., Rice, C.W., Dynes, J.J., Maurmann, L., Wang, J., Karunakaran, C., Kilcoyne, A.L.D., Attanayake, C.P., Amado, T.J.C., Fiorin, J.E., 2018. Sub-micron level investigation reveals the inaccessibility of stabilized carbon in soil microaggregates. *Sci. Rep.* 8, 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34981-9>
- Basile-Doelsch, I., Balesdent, J., Pellerin, S., 2020. Reviews and syntheses: The mechanisms underlying carbon storage in soil. *Biogeosciences Discuss.* 1–33. <https://doi.org/10.5194/bg-2020-49>
- Benzerara, K., Yoon, T.H., Menguy, N., Tylliszczak, T., Brown, G.E., 2005. Nanoscale environments associated with bioweathering of a Mg-Fe-pyroxene. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 979–982. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409029102>
- Benzerara, K., Yoon, T.H., Tylliszczak, T., Constantz, B., Spormann, A.M., Brown Jr, G.E., 2004. Scanning transmission X-ray microscopy study of microbial calcification. *Geobiology* 2, 249–259. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4677.2004.00039.x>
- Boyce, C.K., Cody, G.D., Feser, M., Jacobsen, C., Knoll, A.H., Wirick, S., 2002. Organic chemical differentiation within fossil plant cell walls detected with X-ray

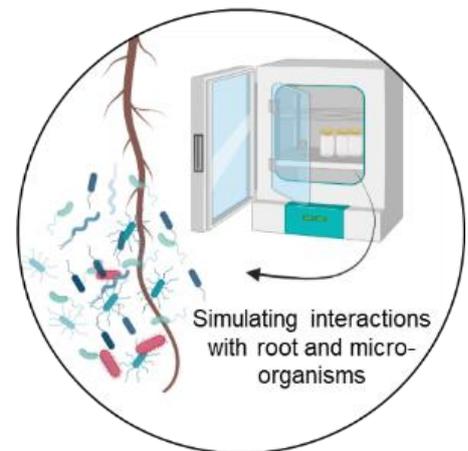
- spectromicroscopy. *Geology* 30, 1039–1042. [https://doi.org/10.1130/0091-7613\(2002\)030<1039:OCDWFP>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1130/0091-7613(2002)030<1039:OCDWFP>2.0.CO;2)
- Brooker, M.H., Irish, D.E., 1970. Crystalline-field effects on the infrared and Raman spectra of powdered alkali-metal, silver, and thallos nitrates. *Can. J. Chem.* 48, 1183–1197. <https://doi.org/10.1139/v70-196>
- Cervini-Silva, J., Gilbert, B., Fakra, S., Friedlich, S., Banfield, J., 2008. Coupled redox transformations of catechol and cerium at the surface of a cerium(III) phosphate mineral. *Geochim. Cosmochim. Acta* 72, 2454–2464. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2008.02.017>
- Chen, Chunmei, Dynes, J.J., Wang, J., Karunakaran, C., Sparks, D.L., 2014. Soft X-ray Spectromicroscopy Study of Mineral-Organic Matter Associations in Pasture Soil Clay Fractions. *Environ. Sci. Technol.* 48, 6678–6686. <https://doi.org/10.1021/es405485a>
- Chen, C., Dynes, J.J., Wang, J., Sparks, D.L., 2014. Properties of Fe-organic matter associations via coprecipitation versus adsorption. *Environ. Sci. Technol.* 48, 13751–13759. <https://doi.org/10.1021/es503669u>
- Cody, G.D., Ade, H., Wirick, S., Mitchell, G.D., Davis, A., 1998. Determination of chemical-structural changes in vitrinite accompanying luminescence alteration using C-NEXAFS analysis. *Org. Geochem.* 28, 441–455. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(98\)00010-2](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(98)00010-2)
- Cosmidis, J., Benzerara, K., 2014. Soft x-ray scanning transmission spectromicroscopy, in: *Biom mineralization Sourcebook*. CRC Press.
- Cotrufo, M.F., Ranalli, M.G., Haddix, M.L., Six, J., Lugato, E., 2019. Soil carbon storage informed by particulate and mineral-associated organic matter. *Nat. Geosci.* 12, 989–994. <https://doi.org/10.1038/s41561-019-0484-6>
- Curti, L., Moore, O.W., Babakhani, P., Xiao, K.-Q., Woulds, C., Bray, A.W., Fisher, B.J., Kazemian, M., Kaulich, B., Peacock, C.L., 2021. Carboxyl-richness controls organic carbon preservation during coprecipitation with iron (oxyhydr)oxides in the natural environment. *Commun. Earth Environ.* 2, 1–13. <https://doi.org/10.1038/s43247-021-00301-9>
- Delcourt, N., Rébufa, C., Dupuy, N., Boukhoud, N., Brunel, C., Abadie, J., Giffard, I., Farnet-Da Silva, A.M., 2019. Infrared spectroscopy as a useful tool to predict land use depending on Mediterranean contrasted climate conditions: A case study on soils from olive-orchards and forests. *Sci. Total Environ.* 686, 179–190. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.240>
- Doelsch, E., Stone, W.E.E., Petit, S., Masion, A., Rose, J., Bottero, J.-Y., Nahon, D., 2001. Speciation and Crystal Chemistry of Fe(III) Chloride Hydrolyzed in the Presence of SiO<sub>4</sub> Ligands. 2. Characterization of Si–Fe Aggregates by FTIR and <sup>29</sup>Si Solid-State NMR. *Langmuir* 17, 1399–1405. <https://doi.org/10.1021/la0013188>
- Downing, H.D., Williams, D., 1975. Optical constants of water in the infrared. *J. Geophys. Res.* 1896-1977 80, 1656–1661. <https://doi.org/10.1029/JC080i012p01656>
- Dynes, J.J., Regier, T.Z., Snape, I., Siciliano, S.D., Peak, D., 2015. Validating the Scalability of Soft X-ray Spectromicroscopy for Quantitative Soil Ecology and Biogeochemistry Research. *Environ. Sci. Technol.* 49, 1035–1042. <https://doi.org/10.1021/es505271p>
- Ehrhardt, C., Gjikaj, M., Brockner, W., 2005. Thermal decomposition of cobalt nitrate compounds: Preparation of anhydrous cobalt(II)nitrate and its characterisation by Infrared and Raman spectra. *Thermochim. Acta* 432, 36–40. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2005.04.010>

- Favaro, L., Boumaza, A., Roy, P., Lédion, J., Sattonnay, G., Brubach, J.B., Huntz, A.M., Tétot, R., 2010. Experimental and ab initio infrared study of  $\chi$ -,  $\kappa$ - and  $\alpha$ -aluminas formed from gibbsite. *J. Solid State Chem.* 183, 901–908. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2010.02.010>
- Francis, J.T., Hitchcock, A.P., 1992. Inner-shell spectroscopy of p-benzoquinone, hydroquinone, and phenol: distinguishing quinoid and benzenoid structures. *J. Phys. Chem.* 96, 6598–6610. <https://doi.org/10.1021/j100195a018>
- Hitchcock, A.P., Morin, C., Heng, Y.M., Cornelius, R.M., Brash, J.L., 2002. Towards practical soft X-ray spectromicroscopy of biomaterials. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 13, 919–937. <https://doi.org/10.1163/156856202320401960>
- Kinyangi, J., Solomon, D., Liang, B., Lerotic, M., Wirick, S., Lehmann, J., 2006. Nanoscale Biogeocomplexity of the Organomineral Assemblage in Soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70, 1708–1718. <https://doi.org/10.2136/sssaj2005.0351>
- Kloprogge, J.T., Ruan, H.D., Frost, R.L., 2002. Thermal decomposition of bauxite minerals: infrared emission spectroscopy of gibbsite, boehmite and diasporite. *J. Mater. Sci.* 37, 1121–1129. <https://doi.org/10.1023/A:1014303119055>
- Lavallee, J.M., Soong, J.L., Cotrufo, M.F., 2020. Conceptualizing soil organic matter into particulate and mineral-associated forms to address global change in the 21st century. *Glob. Change Biol.* 26, 261–273. <https://doi.org/10.1111/gcb.14859>
- Le Guillou, C., Bernard, S., De la Pena, F., Le Brech, Y., 2018. XANES-Based Quantification of Carbon Functional Group Concentrations. *Anal. Chem.* 90, 8379–8386. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b00689>
- Lehmann, J., Kleber, M., 2015. The contentious nature of soil organic matter. *Nature* 528, 60–68. <https://doi.org/10.1038/nature16069>
- Lehmann, J., Liang, B., Solomon, D., Lerotic, M., Luizão, F., Kinyangi, J., Schäfer, T., Wirick, S., Jacobsen, C., 2005. Near-edge X-ray absorption fine structure (NEXAFS) spectroscopy for mapping nano-scale distribution of organic carbon forms in soil: Application to black carbon particles. *Glob. Biogeochem. Cycles* 19. <https://doi.org/10.1029/2004GB002435>
- Lehmann, J., Solomon, D., 2010. Chapter 10 - Organic Carbon Chemistry in Soils Observed by Synchrotron-Based Spectroscopy, in: Singh, B., Gräfe, M. (Eds.), *Developments in Soil Science, Synchrotron-Based Techniques in Soils and Sediments*. Elsevier, pp. 289–312. [https://doi.org/10.1016/S0166-2481\(10\)34010-4](https://doi.org/10.1016/S0166-2481(10)34010-4)
- Lenhardt, K.R., Breitzke, H., Buntkowsky, G., Mikutta, C., Rennert, T., 2022. Interactions of dissolved organic matter with short-range ordered aluminosilicates by adsorption and co-precipitation. *Geoderma* 423, 115960. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2022.115960>
- Lim, H.L., Hwang, Y., Kar, M., Varghese, S., 2014. Smart hydrogels as functional biomimetic systems. *Biomater. Sci.* 2, 603–618. <https://doi.org/10.1039/C3BM60288E>
- Lutfalla, S., Barré, P., Bernard, S., Le Guillou, C., Alléon, J., Chenu, C., 2019. Multidecadal persistence of organic matter in soils: multiscale investigations down to the submicron scale. *Biogeosciences* 1401–1410.
- Parikh, S.J., Goyne, K.W., Margenot, A.J., Mukome, F.N.D., Calderón, F.J., 2014. Chapter One - Soil Chemical Insights Provided through Vibrational Spectroscopy, in: Sparks, D.L. (Ed.), *Advances in Agronomy*. Academic Press, pp. 1–148. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800132-5.00001-8>
- Rasmussen, C., Heckman, K., Wieder, W.R., Keiluweit, M., Lawrence, C.R., Berhe, A.A., Blankinship, J.C., Crow, S.E., Druhan, J.L., Hicks Pries, C.E., Marin-Spiotta, E., Plante, A.F., Schädel, C., Schimel, J.P., Sierra, C.A., Thompson, A., Wagai, R., 2018. Beyond

- clay: towards an improved set of variables for predicting soil organic matter content. *Biogeochemistry* 137, 297–306. <https://doi.org/10.1007/s10533-018-0424-3>
- Ravel, B., Newville, M., 2005. ATHENA, ARTEMIS, HEPHAESTUS: data analysis for X-ray absorption spectroscopy using IFEFFIT. *J. Synchrotron Radiat.* 12, 537–541. <https://doi.org/10.1107/S0909049505012719>
- Saniger, JoséM., 1995. Al-O infrared vibrational frequencies of  $\gamma$ -alumina. *Mater. Lett.* 22, 109–113. [https://doi.org/10.1016/0167-577X\(94\)00234-7](https://doi.org/10.1016/0167-577X(94)00234-7)
- Schäfer, T., Hertkorn, N., Artinger, R., Claret, F., Bauer, A., 2003. Functional group analysis of natural organic colloids and clay association kinetics using C(1s) spectromicroscopy. *J. Phys. IV Proc.* 104, 409–412. <https://doi.org/10.1051/jp4:20030110>
- Schmidt, M.W.I., Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I.A., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D.A.C., Nannipieri, P., Rasse, D.P., Weiner, S., Trumbore, S.E., 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* 478, 49–56. <https://doi.org/10.1038/nature10386>
- Schumacher, M., Christl, I., Scheinost, A., Jacobsen, C., Kretzschmar, R., 2005. Chemical Heterogeneity of Organic Soil Colloids Investigated by Scanning Transmission X-ray Microscopy and C-1s NEXAFS Microspectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 9094–0100.
- Solomon, D., Lehmann, J., Harden, J., Wang, J., Kinyangi, J., Heymann, K., Karunakaran, C., Lu, Y., Wirrick, S., Jacobsen, C., 2012. Micro- and nano-environments of carbon sequestration: Multi-element STXM–NEXAFS spectromicroscopy assessment of microbial carbon and mineral associations. *Chem. Geol., Looking into the Nano-World using X-Rays* 329, 53–73. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2012.02.002>
- Solomon, D., Lehmann, J., Kinyangi, J., Amelung, W., Lobe, I., Pell, A., Riha, S., Ngoze, S., Verchot, L., Mbugua, D., Skjemstad, J., Schäfer, T., 2007. Long-term impacts of anthropogenic perturbations on dynamics and speciation of organic carbon in tropical forest and subtropical grassland ecosystems. *Glob. Change Biol.* 13, 511–530. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01304.x>
- Solomon, D., Lehmann, J., Kinyangi, J., Liang, B., Schäfer, T., 2005. Carbon K-Edge NEXAFS and FTIR-ATR Spectroscopic Investigation of Organic Carbon Speciation in Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 69, 107–119. <https://doi.org/10.2136/sssaj2005.0107dup>
- Stuckey, J.W., Yang, J., Wang, J., Sparks, D.L., 2017. Advances in Scanning Transmission X-Ray Microscopy for Elucidating Soil Biogeochemical Processes at the Submicron Scale. *J. Environ. Qual.* 46, 1166–1174. <https://doi.org/10.2134/jeq2016.10.0399>
- Tamrat, W.Z., Rose, J., Grauby, O., Doelsch, E., Levard, C., Chaurand, P., Basile-Doelsch, I., 2019. Soil organo-mineral associations formed by co-precipitation of Fe, Si and Al in presence of organic ligands. *Geochim. Cosmochim. Acta* 260, 15–28. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2019.05.043>
- Tamrat, W.Z., Rose, J., Grauby, O., Doelsch, E., Levard, C., Chaurand, P., Basile-Doelsch, I., 2018. Composition and molecular scale structure of nanophases formed by precipitation of biotite weathering products. *Geochim. Cosmochim. Acta* 229, 53–64. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2018.03.012>
- Wan, J., Tyliczszak, T., Tokunaga, T.K., 2007. Organic carbon distribution, speciation, and elemental correlations within soil microaggregates: Applications of STXM and NEXAFS spectroscopy. *Geochim. Cosmochim. Acta* 71, 5439–5449. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2007.07.030>

- Zhao, Y., Moore, O.W., Xiao, K.-Q., Curti, L., Fariña, A.O., Banwart, S.A., Peacock, C.L., 2022. The role and fate of organic carbon during aging of ferrihydrite. *Geochim. Cosmochim. Acta* 335, 339–355. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2022.07.003>
- Zhou, Y.Z., Alany, R.G., Chuang, V., Wen, J., 2012. Studies of the Rate Constant of l-DOPA Oxidation and Decarboxylation by HPLC. *Chromatographia* 75, 597–606. <https://doi.org/10.1007/s10337-012-2229-1>

## 5. Chapitre 5 : Étude des interactions entre coprécipités-nanoCLICs, exsudats racinaires et micro-organismes



*Ce chapitre de thèse comporte les résultats d'une série d'incubation comparant la minéralisation de coprécipités synthétiques et naturels. Pour ce travail, une conception et une mise en place d'un système de microcosmes pour petit volumes a été nécessaire, ainsi que le dimensionnement des synthèses de coprécipités en quantité importante.*

*Les personnes impliquées ainsi que leurs contributions respectives à ce chapitre de thèse sont listées ci-dessous. **Floriane Jamoteau** a effectué la conception et mise en place des incubateurs, le maintien des incubateurs et l'acquisitions des données, l'interprétation des résultats et la rédaction de ce chapitre. **Isabelle Basile-Doelsch** a réalisé des tests préliminaires au CSIRO (Australie), effectué les demandes de financement et a participé la conception et la mise en place des incubateurs, le maintien des incubateurs et l'acquisition des données, l'interprétation des résultats et la rédaction de ce chapitre. **Samuel Legros** a participé l'amélioration des conditions d'incubation et la rédaction de ce chapitre. **Laurent Thuries** a participé l'amélioration des conditions d'incubation. **Adrien Duvivier** a participé au maintien des incubateurs, à l'acquisition des données, et a réalisé les dosages par ICP-OES et ICP-MS. **Sarah Wagon** a participé au maintien des incubateurs et à l'acquisition des données. **Vladimir Vidal** a participé à la conception des incubateurs. Ma visite du dispositif d'incubation mis en place aux CSIRO (Adélaïde, Australie) et l'aide de **Steve Szarvas** ont permis la conception des incubations. Ma visite du dispositif d'incubation mis en place aux CIRAD (Montpellier) et l'aide de **Claire Chevassus-Rosset** ont aussi aider à la conception des incubations. **Bernard Angeletti** a réalisé les dosages par ICP-OES et ICP-MS. **Andrea Campos** a analysé les échantillons par MEB.*

*En plus du financement de cette thèse par le **CIRAD** et la **Région SUD**, ces résultats ont été financés par un appel à projets **Pari scientifique INRAE 2019** porté par Isabelle Basile-Doelsch.*

## 5.1. Introduction

La minéralisation du C issu d'une forme de MAOM (*Mineral associated organic matter*; c.-à-d. des MO adsorbées, coprécipitées ou complexées) par le contact avec des micro-organismes a été étudié par l'incubation de MAOM de sols naturels ou de MAOM synthétiques dans des sols artificiels (Jones and Edwards, 1998; Zimmerman et al., 2004; Eusterhues et al., 2011, 2014; Saidu et al., 2015; Li et al., 2017; Porras et al., 2018; Adhikari et al., 2019). Suivant ces études, l'adsorption de C protège celui-ci de la minéralisation (Jones and Edwards, 1998; Zimmerman et al., 2004; Eusterhues et al., 2011, 2014; Saidu et al., 2015; Li et al., 2017; Porras et al., 2018; Adhikari et al., 2019). Et notamment l'adsorption de C sur des minéraux secondaires et mal cristallisés (SRO) (Zimmerman et al., 2004; Eusterhues et al., 2014; Li et al., 2017; Porras et al., 2018; Adhikari et al., 2019). En parallèle, l'incubation de coprécipités a aussi montré le rôle protecteur du mécanisme de coprécipitation face à la dégradation microbienne du C (Eusterhues et al., 2014). Bien que cette étude ait testé la coprécipitation d'éléments organiques variés (C organique dissous issu de sols et lignine : Eusterhues et al., 2014), les coprécipités incubés contiennent seulement du Fe comme élément inorganique. Cependant, les coprécipités - surtout de type nanoCLICs- comportent une diversité d'éléments inorganiques tels que l'Al, le Si et le Fe (Cam et al., in prep, partie 4). Ainsi, la stabilité des coprécipités-nanoCLICs au contact des micro-organismes est à évaluer.

Étudier la dynamique de minéralisation des différentes formes de MAOM seulement en interaction avec les micro-organismes ne représente pas les interactions dans rhizosphère. Les plantes peuvent induire un changement de minéralisation du C du sol par l'exsudation de molécules organiques (Kuzyakov et al., 2000; Fontaine et al., 2003; Bernard et al., 2022). Ce changement de minéralisation est aussi appelé *priming effect induit par les plantes* (Bernard et al., 2022). Il est positif sur les MAOM, c'est-à-dire que le C issu des MAOM est rendu accessible aux micro-organismes, alors capables de le minéraliser (Jilling et al., 2021; Keiluweit et al., 2015). Ces exsudats racinaires peuvent agir deux manières : (i) par un priming biotique induisant une stimulation de la production enzymatique du compartiment microbien alors capable d'accéder aux MAOM ou bien (ii) par priming abiotique induisant des changements de conditions de la solution du sol (pH, Eh, etc ; des changements directs ou bien par stimulation des micro-organismes alors capables de changer les conditions de pH, Eh ; Bernard et al., 2022). Ce priming abiotique pourraient fragiliser les différentes formes de MAOM par une dissolution minérale, des remplacements ou une dépolymérisation (Bernard et al., 2022). Les interactions avec les exsudats racinaires et les micro-organismes peuvent alors faire varier la stabilité des formes de MAOM. Ainsi, la stabilité d'une forme de MAOM doit être étudiée au contact (i) des micro-organismes mais aussi au contact (ii) des micro-organismes et des exsudats racinaires.

La minéralisation du C issu d'une forme de MAOM par le contact avec des micro-organismes et des exsudats racinaires (et le potentiel *priming effect* résultant) est peu étudié. À ce jour, seul Li et al., 2017 ont incubé des MO adsorbées sur différents SRO

(ferrhydrite et  $\text{Al}(\text{OH})_3$ ) et minéraux (goethite et gibbsite) en interaction avec des micro-organismes et des exsudats racinaires. Cette étude a montré que le C adsorbé sur les SRO était davantage sujet à une minéralisation par l'ajout d'acide oxalique (AO). Ce qui suggère que (i) l'arrangement des éléments inorganiques a une forte importance dans l'interaction avec les exsudats racinaires et les micro-organismes. (ii) Et que l'apport d'AO est particulièrement impliqué dans ce priming abiotique (Li et al., 2017; Jilling et al., 2021). Cette molécule est un ligand fort et fait partie des composés les plus abondants dans l'eau de porosité de la rhizosphère (Jones et al., 2003). Par l'arrangement amorphe des éléments inorganiques dans les coprécipités-nanoCLICs (Chapitre 2 et 4), cette forme de MAOM pourrait être particulièrement sujette à un *priming effect* par ajout d'AO.

Ainsi, les objectifs principaux de cette étude sont de mesurer la stabilité du C dans les coprécipités-nanoCLICs suivant des interactions (i) avec des micro-organismes mais aussi (ii) avec des micro-organismes et un exsudat racinaire afin de mesurer un potentiel *priming effect*. Pour cela, des nanoCLICs naturels (issus de fractions fines d'andosol) sont incubés en interaction avec des micro-organismes et en interaction avec des micro-organismes et de l'AO. Le C minéralisé sous forme de  $\text{CO}_2$  est analysé par un respiromètre. Cependant, les proportions élémentaires des coprécipités-nanoCLICs issus des fractions fines d'andosols sont hétérogènes aux nano-échelles (Cam et al., in prep ; partie 4). Afin de mimer certaines hétérogénéités de nanoCLICs, deux types de nanoCLICs synthétiques sont incubés dans les mêmes conditions : l'un comportant une diversité d'éléments inorganiques (Fe et Al principalement, mais aussi Si, Mg, Ca) et l'autre avec de l'Al et du Si (sans Fe).

## 5.2. Matériels et méthodes

### 5.2.1. Échantillonnage de l'andosol et séparation des nanoCLICs naturels

Un andosol en forêt a été échantillonné sur l'île de la Réunion, France ( $55^{\circ}21.53'E$ ,  $21^{\circ}04.70'S$ ). Le site d'étude est situé à l'ouest du Piton des Neiges à une altitude de 1720 m a.s.l et sous un climat subtropical humide. L'échantillon a été prélevé dans un horizon andique enterré à 100 cm de profondeur (4Bw). Plus de détails sont accessibles dans les études de Basile-Doelsch et al., (2007) et Levard et al. (2012). Après échantillonnage, le sol a été tamisé à 2 mm et séché à l'air ( $25^{\circ}\text{C}$ ).

La fraction MAOM de l'andosol est isolée par tamisage humide. Brièvement, environ 10-20 g de sol (séché à l'air) ont été ajoutés à 100 mL d'eau ultrapure et sonifié (70% de la puissance maximale, réglage de 5 s d'ultrasons et 5 s sans ultrasons pendant 1 min ; atteignant  $16 \text{ J.mL}^{-1}$  comme effectué par Basile-Doelsch et al. 2007). Les 100 mL ont ensuite été tamisés par voie humide en utilisant un tamis de  $20 \mu\text{m}$ . La fraction  $<20 \mu\text{m}$  a été décanté pendant 12 h minimum à  $5^{\circ}\text{C}$ . Le surnageant de la fraction  $<20 \mu\text{m}$  a été éliminé afin de réduire la quantité de liquide de la fraction. Le culot de l'andosol a été séché à  $30^{\circ}\text{C}$ . Cette fraction est assimilée aux nanoCLICs naturels (Cam et al., in prep).

## 5.2.2. Formation des nanoCLICs synthétiques

La méthode pour former des coprécipités-nanoCLICs est inspirée du protocole de Tamrat et al., (2018) mais réalisée pour des volumes plus importants. Le protocole comporte trois étapes : (i) l'obtention de la solution d'altération, (ii) la coprécipitation (e.g polymérisation) en présence de C ou sans C et (iii) le rinçage des sels de titration.

- (i) Les solutions d'altération minérale sont obtenues à partir de 33g de minéraux broyés (labradorite ou basalte ; <math><100\mu\text{m}</math>) agité dans 2L d'acide nitrique à pH 1 durant 30 jours minimum. Afin d'obtenir seulement les éléments en solution issus de l'altération, la partie liquide est filtrée à  $2.7\ \mu\text{m}$ , puis  $1.2\ \mu\text{m}$  (Filtres RS FC75R, 55 mm), et enfin, filtrée par flux tangentiel avec un filtre à 10 kDa (soit une taille de pores d'environ 2 nm). Les éléments en solution sont déterminés par ICP-MS (Perkin Elmer Nexlon 300X). Le standard international SLRS-6 (National Research Council of Canada) est utilisé comme standard ICP-MS car il contient du Si, Al et Fe dissous.
- (ii) Les solutions d'altération de labradorite ou de basalte sont ensuite diluées afin d'obtenir une concentration en Al+Fe autour de  $1700\text{-}1800\ \mu\text{mol.L}^{-1}$ , conformément à Tamrat et al, 2019. Chaque synthèse est réalisée dans un volume d'1L, et ajusté à pH 2 avec de la soude (NaOH 5M). Le processus de coprécipitation consiste à un titrage de la solution d'altération à pH 2 avec de la soude (NaOH 0,2 M) jusqu'à un pH de 6.3. Les titrations sont réalisées sous agitation et thermostaté à  $25^\circ\text{C}$  avec un ajout de soude constant de  $240\ \mu\text{L.min}^{-1}$  (automatic titrator 785 DMP Titrino Metrohm).
- (iii) Pour réduire la quantité de sel de  $\text{NaNO}_3$  avant le séchage, les solutions contenant les coprécipités issus d'altération de basalte sont centrifugées et rincées 3 fois avec de l'eau ultra pure. Les coprécipités issus d'altération de labradorite sont rincés avec de l'eau ultra pure par filtration à flux tangentiel avec un filtre à 10 kDa (soit une taille de pores d'environ 2 nm). Ces rinçages permettent d'éliminer, en partie, les MO et éléments inorganiques qui n'ont pas coprécipités. Pour les deux méthodes, le volume de la solution contenant les coprécipités a été réduit à 30 mL environ (suite aux centrifugations et à la filtration tangentielle), puis séché à  $30^\circ\text{C}$ . La solution éliminée, riche en sel de  $\text{NaNO}_3$ , issu de la première centrifugation ou extrait par TFF (perméat), est mesurée par ICP-OES (Agilent 5800 VDV) afin de détecter les éléments qui n'ont pas coprécipités. Le standard SLRS-6 est aussi utilisé comme standard ICP.

Ces synthèses sont réalisées sans et avec un ajout de C sous forme de DOPA (3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine<sup>i</sup>, ajout en poudre avant titration), ajusté à un ratio atomique

---

<sup>i</sup> La DOPA a été choisie car (i) c'est un composé de faible poids moléculaire, représentatif de MAOM (Sutton and Sposito, 2005; Lehmann and Kleber, 2015), (ii) aussi, son faible poids moléculaire évite des fractionnements lors de la coprécipitation (Tamrat et al., 2019), (iii) cette molécule comporte des fonctions chimiques de type catéchol, carboxylique, et amine représentatives de MAOM (Zimmerman et al.,

de  $(Al+Fe)/C = 1$ . Les nanoCLICs réalisés à partir d'altération de basalte sont par la suite appelés C-Fe-Al en présence de DOPA et Fe-Al en l'absence de DOPA<sup>i</sup>. Les nanoCLICs réalisés à partir d'altération de labradorite (pauvre en Fe) sont par la suite appelés C-Al-Si en présence de DOPA et Al-Si en l'absence de DOPA<sup>i</sup>. Les nanoCLICs C-Fe-Al, C-Al-Si sont synthétisés 6 fois, pour un total de 6L de solution contenant les coprécipités. Les nanoCLICs Al-Si, Al-Si sont synthétisés 9 fois, pour un total de 9L de solution contenant les coprécipités. Ces répliques ont permis d'obtenir des quantités de coprécipités suffisamment importantes pour réaliser les expériences d'incubation.

### 5.2.3. Caractérisation des nanoCLICs synthétiques et naturels

La concentration en C des nanoCLICs synthétiques et naturels est analysée par combustion sèche (FlashSmart analyzer, NF ISO 10694) avec 3 répétitions analytiques

La minéralogie des nanoCLICs synthétiques et naturels est analysée en poudre libre par diffraction des rayons X (Philips P3710 X-ray diffractomètre, Co-K $\alpha$  radiation à 40 kV et 40 mA;  $\lambda = 1.79 \text{ \AA}$ ). Les analyses sont faites sur un support en silicium et les diffractogrammes sont acquis avec un temps de comptage de respectivement, 162 ou 206 s par  $0.026$  ou  $0.033^\circ$  sur une gamme d'angles  $2\theta$  de  $2-75^\circ$ .

Les nanoCLICs naturels et synthétiques, séchés à  $30^\circ\text{C}$ , sont observés par loupe binoculaire et par microscopie électronique à balayage (MEB-FEG; ZEISS, Gemini 500; dépôt sur un adhésif en C).

### 5.2.4. Incubation

#### 5.2.4.1. Conception des pots

Le design expérimental se compose de pots de type « LeParfait  $\varnothing 82\text{mm}$ , 250 ml ». Une capsule d'étanchéité (Figure 1) est percée afin de fixer un septum ( $\varnothing 13 \text{ mm}$ ). Le 2<sup>nd</sup> couvercle est aussi percé pour permettre le prélèvement d'air par une aiguille. Les incubateurs se composent d'un tuyau en silicone de 1.3 cm de diamètre interne. L'extrémité basse du tuyau est collée à un tissu filtrant de porosité  $20 \mu\text{m}$  (Loctite 420 CYANO) pour permettre de retenir les éléments incubés et d'assurer une aération au fond des incubateurs. Afin de faciliter l'aération des incubateurs, un support imprimé en 3D (en polylactide, RAISE3D®) créer un espace entre l'incubateur et le fond du tube (i.e. *venting support* en Figure 1). La hauteur et la largeur du substrat incubé sont égales pour éviter les effets de profondeur. Afin de maintenir l'humidité dans l'air des pots, un bécher en verre contenant 2 mL d'eau est ajouté dans chaque pot.

---

2004; Mikutta, 2011) et enfin (iv) la DOPA est sujette à la dégradation enzymatique (Zimmermann et al., 2007). La DOPA est, dans ce cas d'étude, un premier modèle de molécule organique.

<sup>i</sup> En toute rigueur, les coprécipités sans MO ajoutée ne sont pas des associations organo-minérales. Mais la présence de 0.4 à 1 % massique de C (Tableau 3), démontre une faible présence de MO, possiblement issus de l'altération des minéraux. Malgré leur faible teneur en C, nous les appellerons malgré tout nanoCLICs dans la suite afin de simplifier le propos.

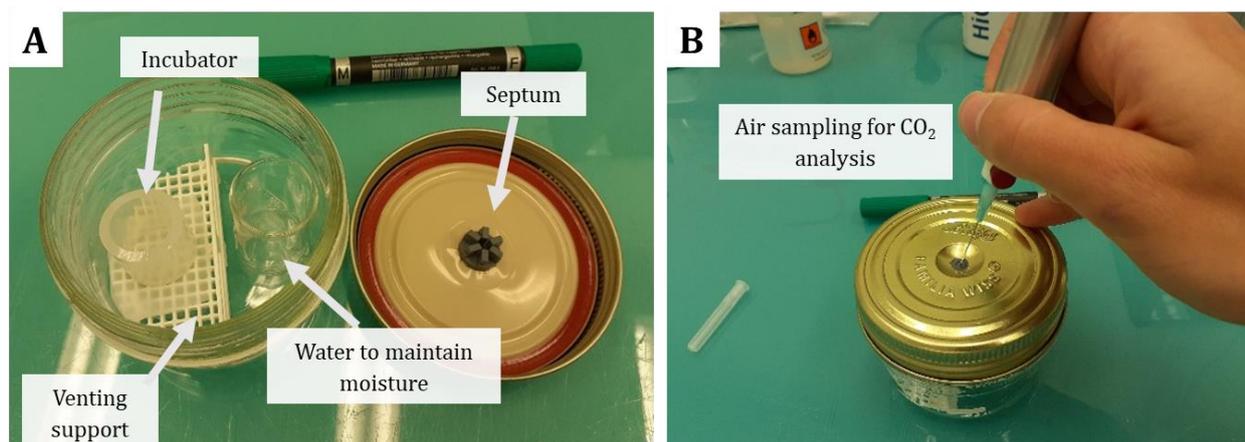


Figure 1. Design expérimental du système d'incubation. (A) matériel du système d'incubation et (B) le prélèvement d'air pour analyse CO<sub>2</sub> via le septum.

#### 5.2.4.2. Modalités d'incubations

Les modalités incubées sont décrites dans le Tableau 1. Chaque modalité a été incubée avec 3 répétitions (c.-à-d. l'incubation de 3 pots). Six modalités ont été incubées pour mesurer la minéralisation du C en interaction avec des micro-organismes seulement : la DOPA (poudre libre, 3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine), des nanoCLICs naturels et des nanoCLICs C-Fe-Al, C-Al-Si, Fe-Al, Al-Si. Ces mêmes modalités, excepté la DOPA, sont incubées avec des ajouts d'acide oxalique : appelés nanoCLICs naturels<sub>AO</sub> et nanoCLICs C-Fe-Al<sub>AO</sub>, C-Al-Si<sub>AO</sub>, Fe-Al<sub>AO</sub>, Al-Si<sub>AO</sub>. L'ajout d'acide oxalique a été fait dans 50 µL concentré à 110 µg C à pH 4.6 (soit 1% du C incubé, quantités basées sur Jilling et al. 2021) . Des modalités de contrôles permettent de déterminer la quantité de C résiduel minéralisé issus des composants, du quartz, de l'inoculum et de la solution nutritive. Aussi, afin d'affiner la calibration de l'analyseur de CO<sub>2</sub>, 6 pots de calibration sont analysés à chaque mesure des différentes modalités. Il s'agit de pots vides avec des ajouts de 0, 0.5, 1, 3 et 5 mL de CO<sub>2</sub> (ajout de CO<sub>2</sub> via une seringue, *Linde Minican CO<sub>2</sub>*). Au total, ces 51 pots d'incubations ont été incubés, mesurés en CO<sub>2</sub> et aérés en même temps.

Dans chaque incubateur, 5.5 g de quartz (Ø 0,6 - 1,2 mm, calciné) est utilisé afin de recréer un sol artificiel. L'humidité est ajustée à 66 % de la capacité de rétention du sable, soit environ 700 µL par incubateur. Cette quantité de liquide est répartie comme suit : 50 µL d'inoculum, 220 µL de solution nutritive et 430 µL d'eau ultrapure. Dans les modalités de contrôles sans inoculum ou sans solution nutritive (Tableau 1, *Quartz et Quartz+inoculum*), la quantité de liquide est compensée avec de l'eau ultrapure afin d'avoir une humidité constante dans toutes les modalités.

L'inoculum est un mélange séché à 25°C de divers types de sol (et un compost) afin de maximiser la diversité de micro-organismes présents. Il se compose d'un compost (12 g), un calcisol de Gap (180g), un arenosol de Brugassière (102g), un rendisol de Toulouse (80g), un calcisol de Montmorillon (105 g) et un néoluvisol de Châteroux (100g). Environ 6 g du mélange est incubé pendant une semaine avec 2 mL d'eau ultrapure. Le jour du début des incubations, 1 à 2 g du mélange incubé a été ajouté à 45 mL d'eau ultrapure.

Après agitation et sédimentation de quelques minutes, 5 mL d'inoculum est prélevé en surface. Ces 5 mL sont mis sous agitation durant la mise en place des incubations, afin d'éviter une sédimentation d'une partie des éléments et des micro-organismes en suspension durant la préparation des incubateurs. Ensuite 50 µL de cet inoculum est ajouté dans les incubateurs (excepté la modalité *Quartz*).

Tableau 1. Synthèse des différentes modalités incubées. La présence des différents éléments est figurée par le signe (X).

Conditions(modalité)		Initial elements			Oxalic acid additions
		Quartz	Inoculum	Nutritive solution	
Controls	Quartz	X			
	Quartz+inoculum	X	X		
	Control_min	X	X	X	
	Control_oxalic acid	X	X	X	X
Mineralization	DOPA (powder)	X	X	X	
	C-Fe-Al	X	X	X	
	C-Al-Si	X	X	X	
	Fe-Al	X	X	X	
	Al-Si	X	X	X	
	Natural nanoCLICs	X	X	X	
Mineralization with oxalic acid additions	C-Fe-Al <sub>AO</sub>	X	X	X	X
	C-Al-Si <sub>AO</sub>	X	X	X	X
	Fe-Al <sub>AO</sub>	X	X	X	X
	Al-Si <sub>AO</sub>	X	X	X	X
	Natural nanoCLICs <sub>AO</sub>	X	X	X	X

La solution nutritive est composée de : 426 mg de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 11 mg de CaSO<sub>4</sub>, 20 mg de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 56 mg de Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O, 18 mg de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et 1 mL d'une solution micro-nutritive (dans un volume total de 100 mL ; basée sur Saily et al., 2015, communication personnelle). La solution micro-nutritive est composée de 2500 mg Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, 616 mg de Mn(SO<sub>4</sub>).H<sub>2</sub>O, 570 mg de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 41 mg de CuCl<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O, 52 mg de ZnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O et 7 mg de Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> (dans un volume total de 1L ; basée sur Saily et al., 2015, communication personnelle).

### 5.2.4.3. Temporalité des mesures de CO<sub>2</sub>, aérations et maintien de l'humidité

Durant l'expérience, 5 mL d'air est prélevé pour chaque mesure de CO<sub>2</sub> via le septum de prélèvement. L'analyse en CO<sub>2</sub> est effectuée par détection infrarouge (Servomex, MiniFoodPack 5200). Les prélèvements de CO<sub>2</sub> ont été effectués tous les jours sur la période J0 à J15, puis tous les 1 à 2 jours sur la période J15 à J26, puis tous les 1 à 4 jours sur la période J26 à J42, et enfin tous les 7 à 20 jours sur la période J42 à J131 (Tableau 2).

Une aération des pots a été effectuée pour éviter une dépression trop importante lié aux prélèvements successifs de 5 mL lors des mesures de CO<sub>2</sub> et pour s'assurer une oxygénation de l'air dans les pots. Pour éviter les effets de dépression par des prélèvements successifs de 5 mL, tous les pots ont été aérés après 2 à 4 prélèvements

successifs de CO<sub>2</sub> (cf expérience préliminaire en Annexe 1 ; Tableau 2), ce qui correspond à une aération tous les 1 à 5 jours jusqu'au 42ème jour d'incubation. Après 42 jours d'incubation, l'aération a eu lieu à chaque prélèvement de CO<sub>2</sub> (tous les 7 à 20 jours). Au jour 0 et à chaque aération des pots, une mesure de CO<sub>2</sub> est faite juste après la fermeture des pots afin de quantifier le CO<sub>2</sub> de l'air ambiant (calculs en 5.2.4.4.).

Aussi, à chaque aération, la quantité d'eau perdue dans chaque incubateur a été corrigée par un ajout d'eau ultrapure (estimation de l'eau perdue par une pesée de l'incubateur).

Les ajouts d'acide oxalique (dans un volume de 50 µL) sont effectués durant ces aérations en jour 5, 9, 13, 17, 21, 24, 31 et 38 (Tableau 2). La quantité d'eau perdue lors des aérations a toujours été égale ou supérieure à 50 µL. Ce qui n'a pas causé de différences d'humidité.

Tableau 2. Temporalité des prélèvements de CO<sub>2</sub>, des prélèvements de CO<sub>2</sub> avec une aération, et des ajouts d'acide oxalique.

Time [days]	0	1	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	17	18	19	20	
CO <sub>2</sub> sampling	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
CO <sub>2</sub> sampling and aeration of the jars					X		X		X		X		X		X	X		X		
Oxalic acid input					X				X				X			X				

Time [days]	21	22	24	25	26	31	32	33	34	35	38	42	62	69	76	87	103	117	131	
CO <sub>2</sub> sampling	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
CO <sub>2</sub> sampling and aeration of the jars	X		X		X	X			X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Oxalic acid input	X		X			X					X									

#### 5.2.4.4. Calibration du respiromètre et calcul de la quantité de C minéralisé cumulée

Chaque mesure de CO<sub>2</sub> [%] par le respiromètre, dans les pots incubés, est recalibrée à l'aide des 6 pots de calibration (0, 0.5, 1, 3 et 5 mL) suivant une équation linéaire ax+b (CO<sub>2calibré</sub>; en mL de CO<sub>2</sub>).

La quantité de CO<sub>2calibré</sub> est ensuite convertie en mg C (mgC\_CO<sub>2</sub>) suivant l'équation (1). Avec P la pression atmosphérique en hPa et T la température ambiante en degrés Celsius. Avec i, les différentes modalités.

$$mgC\_CO_{2_i} = \frac{P \times 100 \times CO_{2\text{calibré}} \times 10^{-6}}{8.3144621 \times (T - 273.15)} \times 12 \times 1000 \quad (1)$$

Ensuite, chaque valeur de mgC\_CO<sub>2</sub> en mg C est soustraite par la quantité de mgC\_CO<sub>2</sub> de l'air ambiant lors de la dernière aération (mgC\_CO<sub>2\_i\_ambient</sub>; mesure juste après la fermeture des pots) suivant l'équation (2) :

$$mgC_{CO_2i} = mgC_{CO_2i} - mgC_{CO_2i_{ambient}} \quad (2)$$

Ainsi, les résultats de  $mgC_{CO_2}$  après plusieurs aérations ( $mgC - CO_{2i}$ ) sont cumulés d'aération en aération ( $n$ ) en mg C, suivant l'équation (3) :

$$mgC_{CO_2i} = mgC_{CO_2i_n} + mgC_{CO_2i_{n-1}} + mgC_{CO_2i_{n-2}} \dots \quad (3)$$

## 5.2.5. Calculs de la quantité de C minéralisé issus des coprécipités

La quantité de C minéralisé issu d'une modalité ( $i$  : DOPA, nanoCLICs naturels, C-Fe-Al, C-Al-Si, Fe-Al ou Al-Si) en interaction seulement avec les micro-organismes ( $Mineralized\_C$ , en mg C) est calculée par soustraction du C minéralisé du contrôle  $Control\_min$  (4)

$$Mineralized\_C_i = mgC_{CO_2i} - mgC_{CO_2_{Control\_min}} \quad (4)$$

Avec  $mgC_{CO_2i}$  la quantité de C minéralisé en mg C issu d'une modalité ( $i$ ), et  $mgC_{CO_2_{Control\_min}}$ , la quantité de C minéralisé en mg C issu du contrôle  $Control\_min$ .

La quantité de C minéralisé des modalités ( $i$  : nanoCLICs naturels<sub>AO</sub>, C-Fe-Al<sub>AO</sub>, C-Al-Si<sub>AO</sub>, Fe-Al<sub>AO</sub> ou Al-Si<sub>AO</sub>) en interaction avec les micro-organismes et l'acide oxalique ( $Mineralized\_C_{AO}$ ) est calculée par soustraction du C minéralisé du contrôle  $Control\_oxalic\_acid$ , suivant l'équation (5) :

$$Mineralized\_C_{AOi} = mgC_{CO_2i} - mgC_{CO_2_{Control\_oxalic\_acid}} \quad (5)$$

Avec  $mgC_{CO_2_{Control\_oxalic\_acid}}$ , la quantité de C mg C du contrôle  $Control\_oxalic\_acid$ .

Le pourcentage de C minéralisé ( $Mineralized\_C [\%]_i$ ) des modalités  $i$  : DOPA, nanoCLICs naturels, C-Fe-Al, C-Al-Si, Fe-Al ou Al-Si est calculé suivant l'équation (6)

$$Mineralized\_C [\%]_i = \frac{100 * Mineralized\_C [\%]_i}{incubated\_C} \quad (6)$$

Avec  $incubated\_C$ , la quantité de C incubé issu de la modalité en mg C, préalablement déterminée par analyse de C en combustion sèche.

Le pourcentage de C minéralisé ( $Mineralized\_C [\%]_{AOi}$ ) des modalités  $i$  : nanoCLICs naturels<sub>AO</sub>, C-Fe-Al<sub>AO</sub>, C-Al-Si<sub>AO</sub>, Fe-Al<sub>AO</sub> ou Al-Si<sub>AO</sub> est calculé suivant l'équation (7)

$$Mineralized\_C [\%]_{AOi} = \frac{100 * Mineralized\_C_{AOi}}{incubated\_C} \quad (7)$$

Le pourcentage de priming effect, pour les modalités  $i$  : nanoCLICs naturels<sub>AO</sub>, C-Fe-Al<sub>AO</sub>, C-Al-Si<sub>AO</sub>, Fe-Al<sub>AO</sub> ou Al-Si<sub>AO</sub> est calculé avec l'équation (8) :

$$Priming\ effect_i = 100 * \frac{Mineralized\_C [\%]_{AOi} - Mineralized\_C [\%]_i}{Mineralized\_C [\%]_i} \quad (8)$$

## 5.3. Résultats

### 5.3.1. Caractérisation des coprécipités incubés

#### 5.3.1.1. Caractérisation des nanoCLICs naturels

Les nanoCLICs naturels, imagés en Figure 2, comportent  $9.4 \text{ gC.}100\text{g}^{-1}$  (Tableau 3). La minéralogie de cette fraction est analysée par DRX (Figure 4). Les diffractogrammes sont composés majoritairement de bandes de diffusion autour de  $6^\circ$  et  $35^\circ$  (Figure 3) attribué à des phases mal-cristallisées et/ou amorphes aux rayons X. Quelques pics bien définis sont attribués aux feldspaths et oxydes de Fe (Basile-Doelsch et al., 2005). De précédentes études sur les fractions fines de cet Andosol ont montré que le C est lié aux éléments issus de l'altération minérale (Basile-Doelsch et al., 2005; Levard et al., 2012) par un mécanisme de coprécipitation de type nanoCLICs, avec majoritairement de l'Al, Si et peu de Fe (Cam et al., in prep). Suivant ces précédentes études, et par la détection d'une fraction de sol riche en C et en phases mal cristallisées et/ou amorphes aux rayons X, cette fraction pourrait isoler les coprécipités-nanoCLICs. C'est pourquoi cette fraction est nommée nanoCLICs naturels (*natural nanoCLICs*) dans la suite de ce document.

#### 5.3.1.2. Caractérisation des nanoCLICs synthétiques

Aux échelles centi à micrométriques, les nanoCLICs C-Fe-Al et C-Al-Si ont une couleur noire et ont un aspect/une texture de « charbon » (Figure 2). Les nanoCLICs Fe-Al et Al-Si sont plus friables et cassants. Les nanoCLICs Fe-Al sont de couleur rouille tandis que les nanoCLICs Al-Si sont de couleur sable. L'imagerie à l'échelle de la centaine de nanomètre par MEB, montre des surfaces poreuses (pores de l'ordre de 10 à 100 nm) pour les nanoCLICs C-Fe-Al et lisses (non poreuses) pour les nanoCLICs C-Al-Si. Les surfaces des nanoCLICs Fe-Al comportent aussi des pores (pores de l'ordre de 10 à 100 nm) alors que les surfaces des nanoCLICs Al-Si sont lisses (non poreuses).

La quantité de nanoCLICs obtenus est d'environ  $150$  à  $200 \text{ mg.L}^{-1}$  pour les nanoCLICs C-Fe-Al et C-Al-Si et de  $120$  à  $130 \text{ mg.L}^{-1}$  pour les nanoCLICs Fe-Al et C-Al-Si. Les nanoCLICs C-Fe-Al et C-Al-Si comportent  $\sim 7.5 \text{ gC.}100\text{g}^{-1}$  (Tableau 3). Les nanoCLICs Fe-Al et Al-Si comportent respectivement  $1$  et  $0.4 \text{ gC.}100\text{g}^{-1}$ . Pourtant, aucun ajout de C n'a été fait durant ces synthèses. Nous supposons que ce C provienne des minéraux altérés.

Les bilans de coprécipitation des éléments inorganiques coprécipités ne sont pas calculés en masse car une partie des nanoCLICs a été perdue durant le rinçage des sels. Aussi, les quantités de nanoCLICs obtenus étaient trop faibles pour effectuer une fusion alcaline. Afin d'approximer la quantité et le type d'éléments coprécipités, la solution avant coprécipitation et la solution au contact des nanoCLICs après coprécipitation a été analysés par ICP (Figure 4). Ainsi, les quantités élémentaires « disparues » sont interprétées comme coprécipitées dans les nanoCLICs. Pour les nanoCLICs C-Fe-Al, les concentrations de Fe et Al ont fortement diminué, suggérant la coprécipitation de ces éléments. Le Si n'a pas pu être analysé, il est suspecté d'avoir coprécipité car les protocoles

de synthèse sont très similaires à ceux de Tamrat et al., 2019 et du Chapitre 4B. Aussi, la moitié du Ca en solution a coprécipité ainsi qu'une partie du Mg<sup>k</sup>. Pour les nanoCLICs C-Al-Si, l'Al a coprécipité en majorité. Le Si est suspecté d'avoir coprécipité. Alors que le Ca n'a pas ou peu coprécipité. Pour les nanoCLICs Fe-Al, les concentrations de Fe et Al ont fortement diminué, suggérant la coprécipitation de ces éléments. Le Si est suspecté d'avoir coprécipité. Aussi la moitié du Ca en solution a coprécipité ainsi qu'une partie du Mg. Pour les nanoCLICs Al-Si, l'Al a coprécipités en majorité. Le Si est suspecté d'avoir coprécipité. Alors que le Ca n'a pas ou peu coprécipité.

Le diffractogramme analysé par DRX de la DOPA comporte de nombreux pics de diffraction entre les angles 7 et 60° (Figure 3). Alors que ce n'est pas le cas lorsque la DOPA est coprécipitée dans les nanoCLICs C-Fe-Al et C-Al-Si. Seule de larges bandes de diffusion autour de 4.5-8, 31-35 et 47° restent visibles. Ces résultats confirment que, la DOPA coprécipitée n'a pas le même arrangement que sous forme de poudre libre. Et que la détection uniquement de bandes de diffusion confirme un arrangement des éléments coprécipités en phases mal-cristallisés ou amorphes par DRX. Un faible pic de NaNO<sub>3</sub> est détecté pour la modalité C-Al-Si malgré le rinçage de ces sels. Les diffractogrammes des nanoCLICs Fe-Al et Al-Si, comportent les mêmes bandes de diffusion aux angles 4.5-8, 31-35 et 47°. Cependant, les bandes de diffusion autour de 4.5 et 8° sont plus intenses que celles des nanoCLICs C-Fe-Al et C-Al-Si.

---

<sup>k</sup> Les nanoCLICs synthétiques issus de l'altération de basalte sont appelés Fe-Al-Si-Mg-DOPA dans le Chapitre 4. Les nanoCLICs C-Fe-Al, dans ce Chapitre 5, sont synthétisés avec les mêmes solutions d'altération. Afin d'alléger le discours, ils sont appelés C-Fe-Al dans ce Chapitre 5.

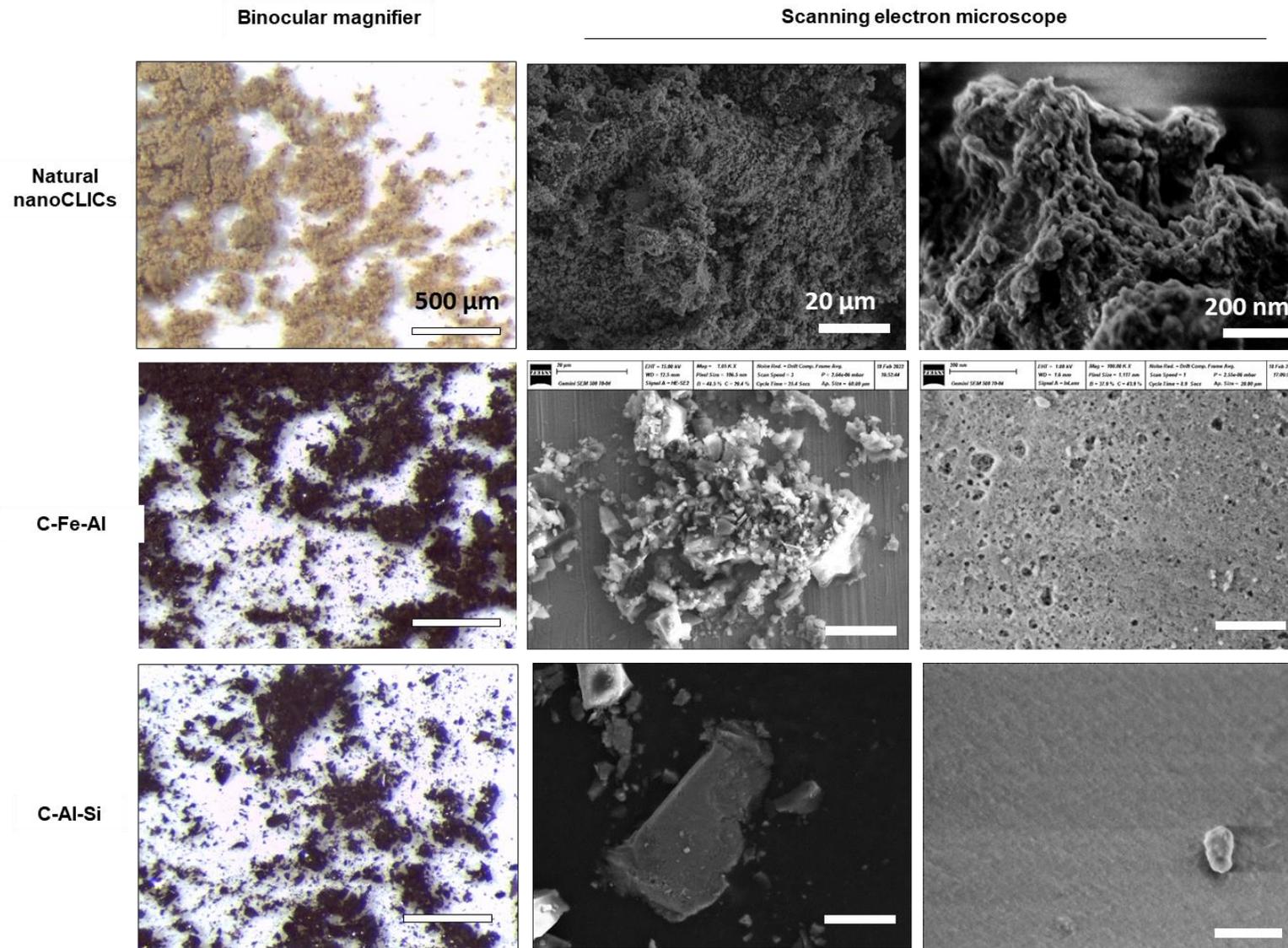


Figure 2. Observation des nanoCLICs naturels et synthétiques à la loupe binoculaire et par microscopie électronique à balayage (MEB).

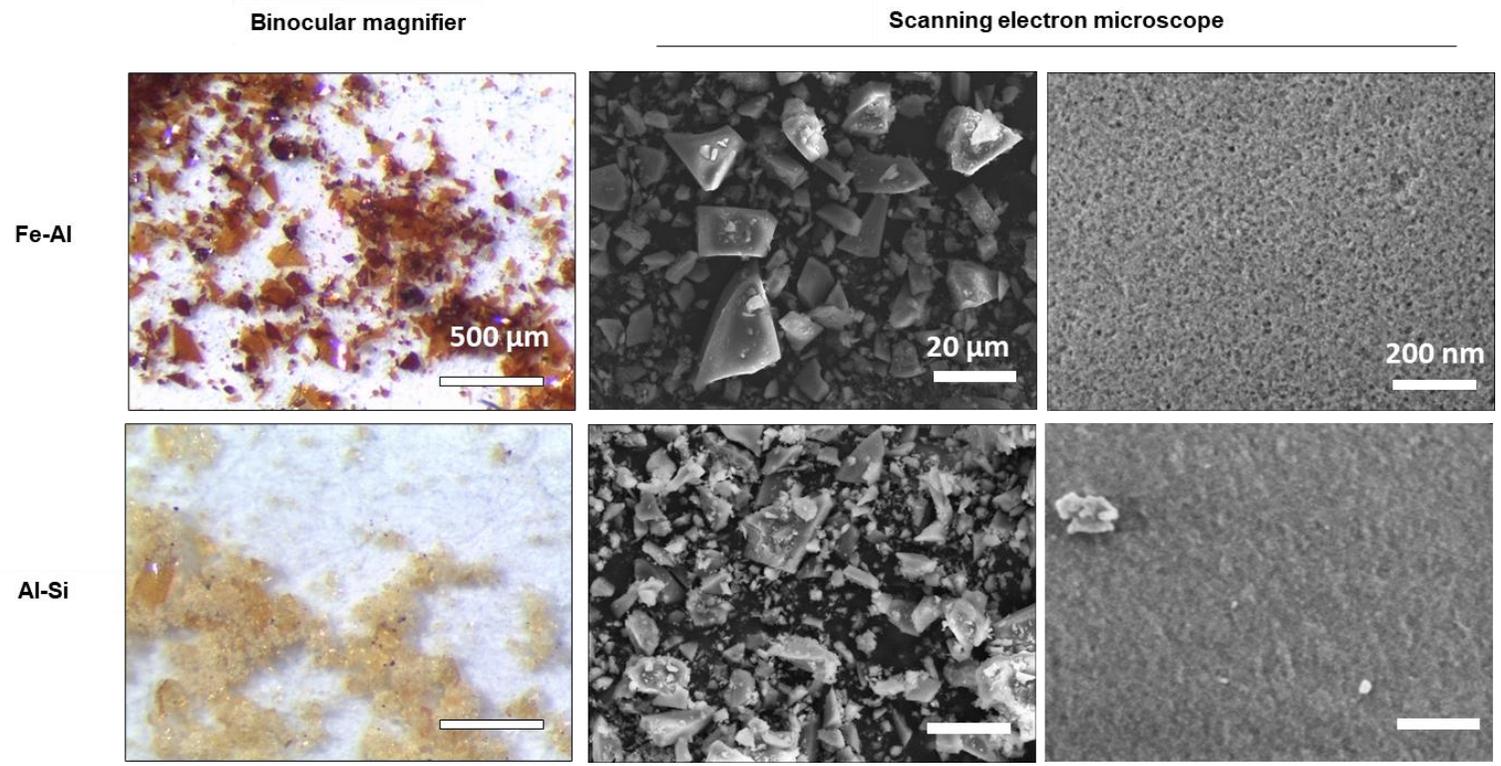
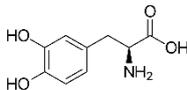


Figure 2. Suite.

Tableau 3. Dosage C de la DOPA, des nanoCLICs naturels et synthétiques. L'erreur associée à la concentration de C est issue de 3 répétitions analytiques.

	DOPA 	Natural nanoCLICs	Synthetic nanoCLICs			
			C-Fe-Al	C-Al-Si	Fe-Al	Al-Si
C content [gC.100g <sup>-1</sup> ]	55±0.4	9,4±0.6	7,7±0.1	7,30±0.8	1±0.0	0,4±0.1
Mass per incubator [mg]	20	220	150	149	120	150
C amount per incubator [mg]	11	11	11,6	10,9	1,2	0,6

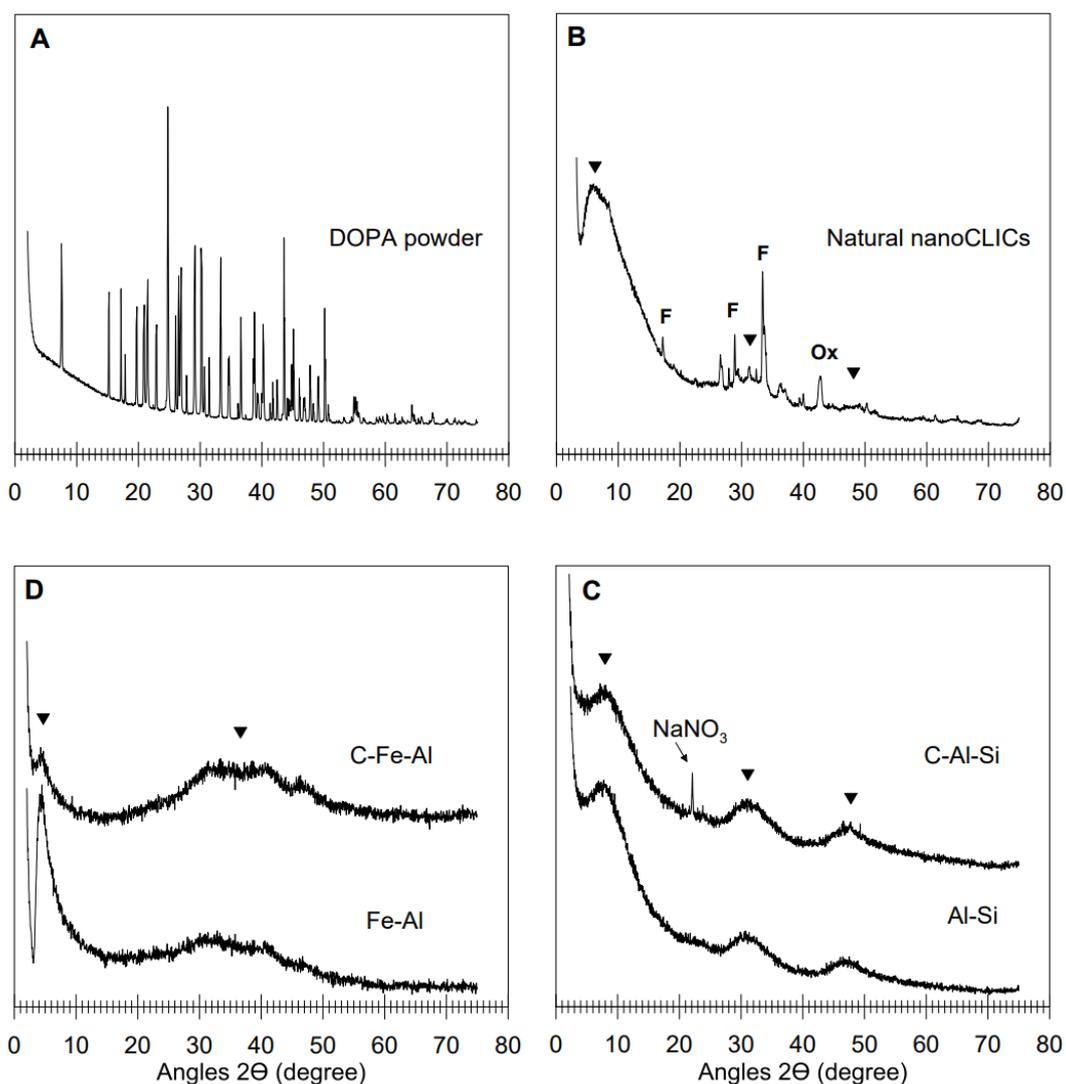


Figure 3. Minéralogie par DRX de la DOPA, des nanoCLICs naturels et synthétiques. Représentation en échelle linéaire, l'amplitude de l'axe des ordonnées est différente pour les graphiques A, B, C et D. Le diffractogramme de la DOPA a de nombreux pics de diffraction entre les angles 7 à 60 degrés. Les diffractogrammes des nanoCLICs naturels comportent des bandes de diffusion autour de 6, 30 et 47 degrés (▼), des feldspaths (F) et des oxydes de Fe (Ox). Les diffractogrammes des nanoCLICs synthétiques comportent des bandes de diffusion (▼) autour de 4.5 et 35 degrés pour les modalités C-Fe-Al et Fe-Al et autour de 8, 31 et 47 degrés pour les modalités C-Al-Si et Al-Si.

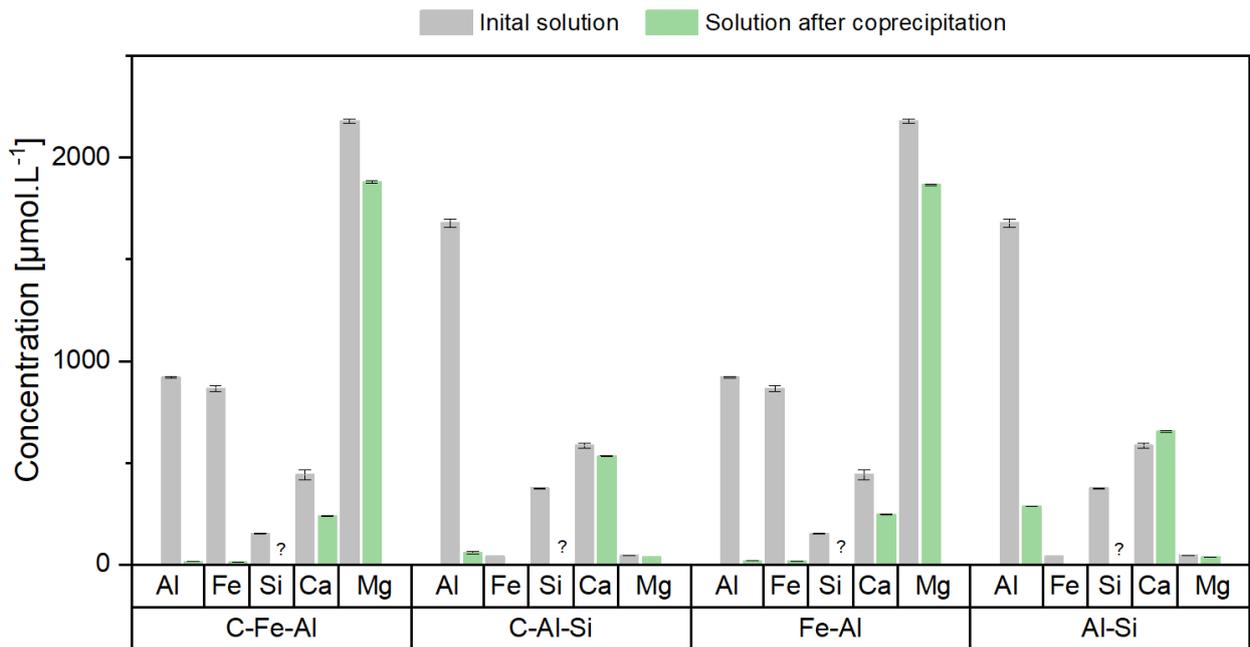


Figure 4. Bilan de coprécipitation élémentaire des nanoCLICs synthétiques. Cette figure montre les concentrations de la solution avant et après coprécipitation pour les éléments Al, Fe, Ca et Mg (le Si n'a pas pu être analysé par ICP-OES, de nouvelles analyses sont en cours). Les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type de 3 répétitions analytiques.

## 5.3.2. Incubations

### 5.3.2.1. Contrôles de minéralisation

Les modalités de contrôles ont atteint un plateau de minéralisation autour de 40 jours (Figure 5). La minéralisation du C est croissante pour respectivement, le *quartz* < *quartz+inoculum* < *Control\_min* (contenant du quartz, l'inoculum et la solution nutritive) < *Control\_oxalic acid* (contenant du quartz, l'inoculum, la solution nutritive et l'acide oxalique). Ces résultats indiquent que l'inoculum apporte peu de C dans les incubateurs : avec la solution nutritive, la minéralisation de C issu de l'inoculum est d'environ  $0.2 \pm 0.1$  mg C (par différence du contrôle *Control\_min* et *quartz*). Aussi, les différents matériaux ne semblent pas produire de fortes pollutions de CO<sub>2</sub>. La modalité *Control\_oxalic acid* comportent 8 ajouts d'acide oxalique soit 0.88 mg C ajouté, dont  $\sim 0.4 \pm 0.1$  mg C est minéralisé, soit 46 % (par soustraction de la modalité *Control\_min*).

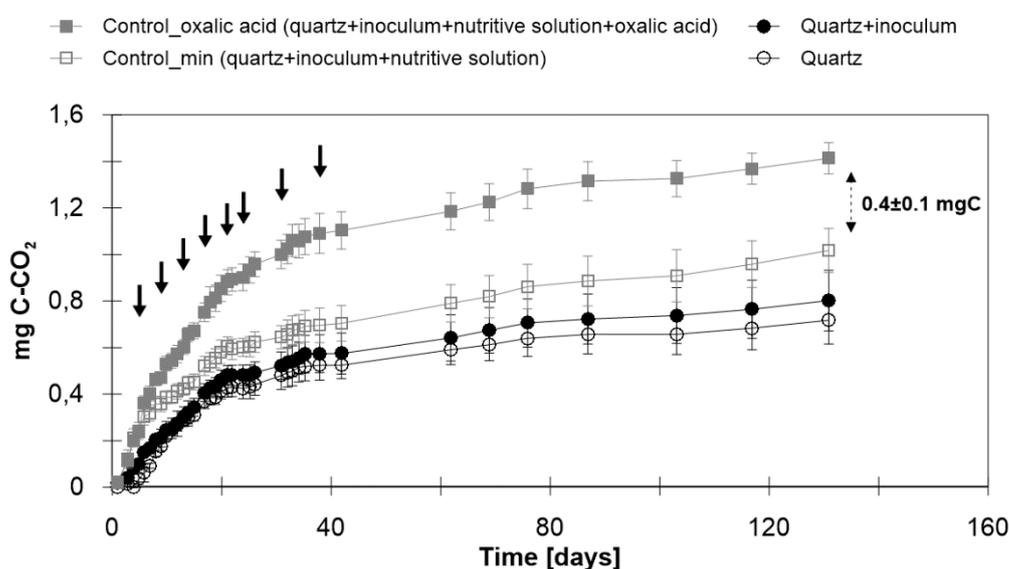


Figure 5. Minéralisation cumulée des contrôles d'incubation. Les barres d'erreurs sont issues de 3 répétitions expérimentales. Chaque ajout d'acide oxalique est figuré par une flèche (↓).

### 5.3.2.2. Minéralisation de la DOPA, des nanoCLICs naturels et synthétiques

La minéralisation de la DOPA est de  $65 \pm 2\%$ , avec un plateau atteint après 25 jours d'incubation (Figure 6). Cette forte minéralisation indique des conditions d'incubations convenables à la minéralisation de ce type de molécule organique par les micro-organismes.

En revanche, dans les conditions incubées, la minéralisation du C issu des nanoCLICs naturels n'est pas significativement positive (e.g. n'est pas supérieur au contrôle *Control\_min*).

Les nanoCLICs C-Fe-Al et C-Al-Si ont une dynamique de minéralisation lente avec un plateau de minéralisation non atteint après 130 jours. Cette minéralisation est de  $10\pm 1\%$  pour les nanoCLICs C-Fe-Al et de  $7\pm 1\%$  pour les nanoCLICs C-Al-Si. Ces modalités comportent pourtant une même quantité de C que la modalité DOPA seule. La DOPA sous forme de nanoCLICs se trouve donc protégée de la minéralisation. Aussi la différence, faible mais présente, entre ces deux modalités C-Fe-Al et C-Al-Si suggère une importance des éléments inorganiques coprécipités dans le degré de protection de la DOPA.

Par leur faible teneur en C, les nanoCLICs Fe-Al ont peu de C minéralisé (Figure 6). Cette minéralisation du C résiduel, correspond à  $19\pm 9\%$  de C minéralisé (Annexe 2). Les coprécipités Al-Si n'ont pas de minéralisation supérieure au contrôle sur l'ensemble de la période d'incubation (Figure 6). Aussi, d'un point de vue temporel, les modalités nanoCLICs naturels, Fe-Al, C-Al-Si et Al-Si ont une minéralisation inférieure au contrôle durant, au minimum, les 15 premiers jours d'incubation suggérant une adaptation de la communauté microbienne différente du contrôle.

### **5.3.2.3. Minéralisation des nanoCLICs naturels et synthétiques avec des ajouts d'acide oxalique**

La comparaison de la minéralisation des modalités qui ont reçu les ajouts d'AO et celle qui n'ont reçu ces ajouts est visible en Figure 7 et en Annexe 2.

Après 131 jours d'incubation, les nanoCLICs naturels<sub>AO</sub> et synthétiques C-Fe-Al<sub>AO</sub> et C-Al-Si<sub>AO</sub> ont une minéralisation supérieure avec les ajouts d'AO, respectivement de 9, 17 et 12 % de C contre 1, 10 et 7 % sans les ajouts d'AO.

Après chaque ajout d'AO sur les nanoCLICs naturels<sub>AO</sub>, la minéralisation du C est plus forte suggérant un pic de respiration juste après ces ajouts. Pour les nanoCLICs C-Fe-Al<sub>AO</sub> et C-Al-Si<sub>AO</sub>, l'augmentation de la minéralisation du C après les ajouts d'AO est observée seulement à partir du jour 17 ou 24. Les modalités de nanoCLICs Fe-Al<sub>AO</sub> et Al-Si<sub>AO</sub> n'ont pas montré de minéralisation supérieure lors d'ajout d'AO (Annexe 2).

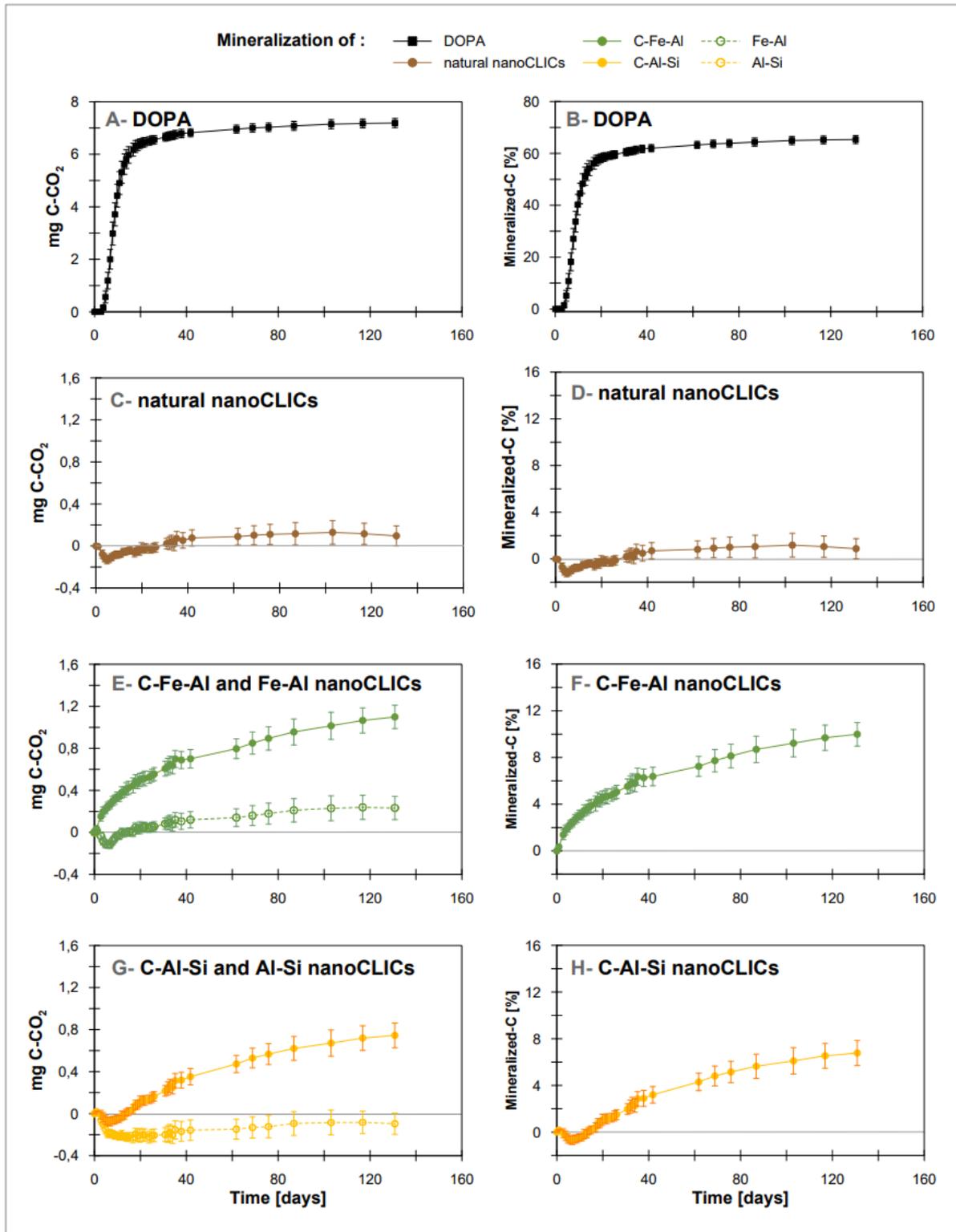


Figure 6. Quantité de C minéralisé cumulé de la DOPA (A-B), des nanoCLICs naturels (C-D) et synthétiques (E-H). Écart-type de 3 répétitions expérimentales. La quantité de C-CO<sub>2</sub> et du pourcentage de C minéralisé sont calculés par soustraction du témoin *Control\_min* (voir méthode 5.2.5).

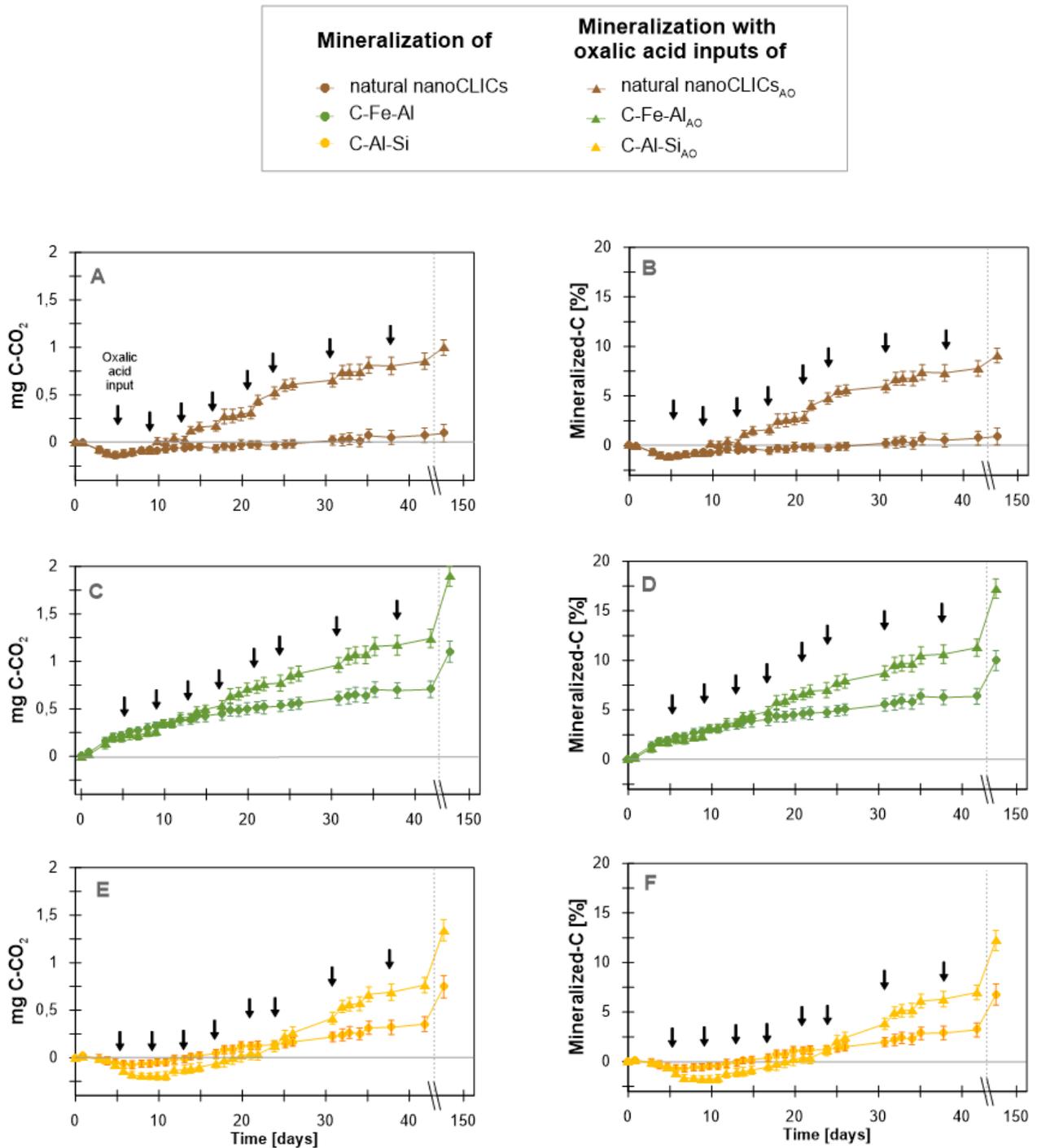


Figure 7. Quantité de C minéralisé cumulé des nanoCLICs naturels (A-B) et synthétiques (C-F) avec ajouts d'acide oxalique. Écart-type de 3 répétitions expérimentales. Les ajouts d'acide oxalique (AO) sont figurés par une flèche noire (↓). La quantité de C-CO<sub>2</sub> et le pourcentage de C minéralisé sont calculés par soustraction du témoin *Control\_min* ou *Control\_oxalic\_acid* pour les modalités comportant des ajouts d'AO (voir méthode 5.2.5). La représentation de l'axe des abscisses est tronquée afin de mieux visualiser la dynamique de minéralisation après des ajouts d'AO (représentation non tronquée en Annexe 3).

## 5.4. Discussion

### 5.4.1. Les coprécipités-nanoCLICs protègent le C de la minéralisation

#### 5.4.1.1. Une protection du C de la minéralisation

Dans les conditions incubées, les nanoCLICs naturels ont une protection quasi totale du C face à la dégradation microbienne ( $1\pm 1\%$  de minéralisation). La DOPA seule est minéralisée à hauteur de  $65\pm 2\%$  alors que les nanoCLICs C-Fe-Al et C-Al-Si contenant la même quantité de C sous forme de DOPA ont une minéralisation de  $7\pm 1$  à  $10\pm 1\%$  (Figure 8). Les nanoCLICs synthétiques protègent donc une grande partie du C de la minéralisation. Cependant, une partie du C des nanoCLICs synthétiques est accessible contrairement aux nanoCLICs naturels. Ainsi, les nanoCLICs synthétiques confirment un effet de protection du C mais ils ne reproduisent pas complètement la protection du C des nanoCLICs naturels. Suivant les caractérisations effectuées des nanoCLICs naturels issus d'andosols et les nanoCLICs synthétiques (Chapitre 2 et 4 ; Basile-Doelsch et al., 2005, Levard et al., 2012 ; Cam et al., in prep), ils se distinguent, suivants :

- L'hétérogénéité des MO coprécipités. Dans les synthèses, la MO est représentée par la molécule de DOPA. Les fonctions chimiques portées par la DOPA, représentent les fonctions chimiques du C de nanoCLICs naturels issus d'andosol (Chapitre 4B). Mais en dépit de nombreuses fonctions chimiques, cette molécule simple ne peut représenter l'ensemble des MO des MAOM des sols (Kleber et al., 2011; Schmidt et al., 2011; Miltner et al., 2012; Angst et al., 2021). Lors de coprécipitations de diverses MO naturelles avec du Fe, les MO coprécipitées sont similaires aux MO initiales (Eusterhues et al., 2011; Chen et al., 2014). Ainsi, les MO coprécipitées peuvent être très hétérogènes.
- Aussi, les cartographies chimiques aux nano-échelles des coprécipités naturels ont des proportions élémentaires hétérogènes spatialement, notamment entre les éléments C, Al, Si et Fe (Cam et al., in prep ; Partie 4). Alors que les proportions élémentaires des nanoCLICs synthétiques sont homogènes spatialement (Cam et al., in prep). Ces différences pourraient impacter la structure des nanoCLICs et, *in fine*, impacter la minéralisation du C.
- Aussi, les surfaces aux échelles micro à centi-nanométriques (Figure 2) sont différentes entre les nanoCLICs naturels et synthétiques. Les nanoCLICs naturels ont une structure en 3D avec plus de relief et d'irrégularités que les nanoCLICs synthétiques. Ces différences de structures 3D pourraient impacter l'accessibilité des MO coprécipitées aux micro-organismes.
- Pour finir, le temps pourrait aussi expliquer cette différence de minéralisation. Les nanoCLICs naturels sont probablement issus d'un processus long de

coprécipitation qui se fait en équilibre sur le long terme avec les micro-organismes du sol. Ainsi des MO coprécipitées les plus accessibles sont probablement déjà minéralisées contrairement aux nanoCLICs synthétiques qui n'ont pas eu d'interaction avec des micro-organismes du sol.

Pour conclure de multiples hypothèses peuvent expliquer la différence de dynamique entre nanoCLICs naturels et synthétiques. Mais dans les conditions incubées, les nanoCLICs naturels comme synthétiques protègent le C de la minéralisation microbienne.

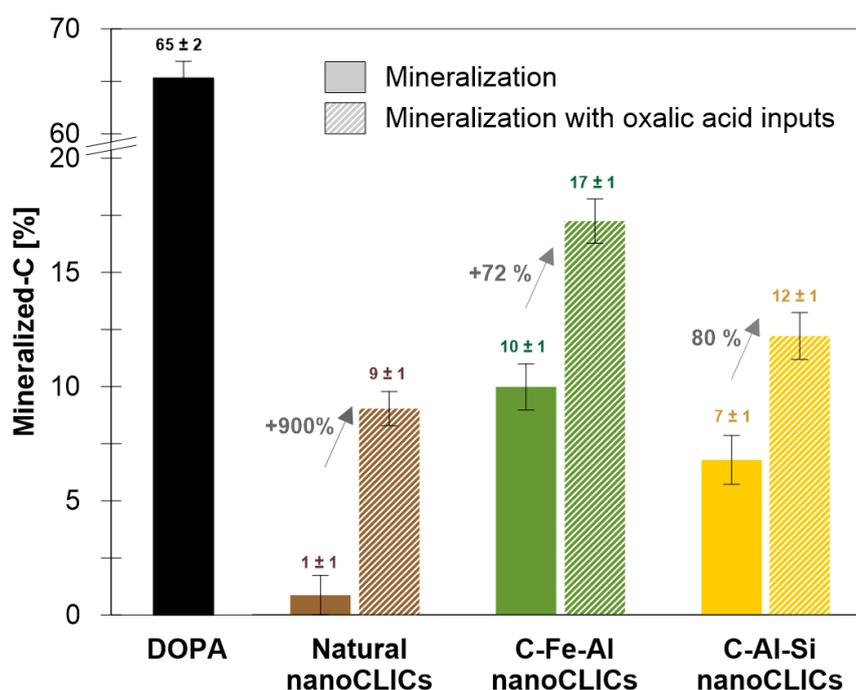


Figure 8. Pourcentage de C minéralisé issu de la DOPA, des nanoCLICs naturels et synthétiques avec et sans ajout d'acide oxalique. Écart-type de 3 répétitions expérimentales. La quantité totale cumulée est représentée après 131 jours d'incubation. La modalité DOPA n'a pas reçu d'ajout d'acide oxalique.

#### 5.4.1.2. Une protection influencée par les éléments inorganiques coprécipités ?

La différence de minéralisation, faible mais présente, entre les nanoCLICs synthétiques C-Fe-Al et C-Al-Si suggère une importance des éléments inorganiques coprécipités dans la protection du C. Cette différence peut s'expliquer par diverses hypothèses liées à leurs propriétés intrinsèques :

- Les nanoCLICs C-Al-Si contiennent le deux fois plus d'Al que les nanoCLICs C-Fe-Al (Figure 4). L'Al peut avoir un impact sur la minéralisation du C par un effet toxique sur les micro-organismes (inhibition de l'activité enzymatique) et une acidification du milieu (Wood, 1995; Kunito et al., 2016). Cet impact pourrait être temporaire pour certaines modalités, entre les jours 5 à 15 pour les nanoCLICs C-Al-Si ou bien

jusqu'au jour 10 pour les nanoCLICs naturels qui contiennent majoritairement des complexes d'Al-OM (Basile-Doelsch et al., 2005). L'impact de l'Al pourrait aussi expliquer la plus faible minéralisation de la modalité Al-Si comparée au contrôle sur l'ensemble de la période d'incubation.

- Aussi, la teneur en Fe des coprécipités pourrait influencer la minéralisation des nanoCLICs C-Fe-Al. Et dans ce cas, favoriser la minéralisation des coprécipités avec du Fe. Le Fe peut être moins associé au C lors de plus fortes fluctuations de rédox (Inagaki et al., 2020; Possinger et al., 2020). À chaque aération, l'eau perdue pouvait atteindre 20 % au pic de minéralisation (J5 à 15 ; données non montrées). Cette fluctuation pourrait entraîner des fluctuations de redox du Fe dans les nanoCLICs, et potentiellement influencer la stabilité des liaisons avec le Fe. Toutefois, aucune cartographie avant/après incubation n'a été effectuée, ce qui ne nous permet pas d'attester cette hypothèse.
- Pour finir, l'imagerie des surfaces des nanoCLICs C-Fe-Al est poreuses alors que les surfaces des nanoCLICs C-Al-Si semblent plus compactes. Il est possible que cette différence de texture influence l'accessibilité aux micro-organismes et donc leur minéralisation. Ces différentes surfaces sont probablement liées aux différences d'éléments inorganiques coprécipités.

Pour conclure, les différences de minéralisation et dynamique temporelle peuvent être liées à de multiples raisons. Malgré tout, cette expérience montre que la coprécipités-nanoCLICs protègent une partie du C. Et que cette stabilisation peut varier en fonction des éléments inorganiques coprécipités.

#### **5.4.2. Les coprécipités-nanoCLICs sujet au *priming effect***

L'ajout d'acide oxalique (AO) sur les nanoCLICs naturels<sub>AO</sub> a provoqué un *priming effect* de 900% (Figure 8). Ce *priming effect* élevé est expliqué par la minéralisation des nanoCLICs naturels quasi nulle sans ajout d'AO. Les synthèses de nanoCLICs ont aussi un *priming effect* entre 80 et 72 % pour les modalités C-Al-Si<sub>AO</sub> et C-Fe-Al<sub>AO</sub> respectivement. Pour d'autres types de sol ou fractions de sols, le *priming effect* par apport d'AO est variable entre 38 à 128 % (Hamer and Marschner, 2005; Jilling et al., 2021). Ainsi, les coprécipités-nanoCLICs (naturels et synthétiques) sont sujets au *priming effect* quel que soit les éléments inorganiques coprécipités.

Les processus associés au *priming effect* peuvent être nombreux (Bernard et al., 2022). Dans la littérature, l'ajout d'AO est associé à un *priming effect* dit « *abiotic mediated* », c'est-à-dire que l'AO modifie les conditions physico-chimiques (pH, rédox ...) de la solution du sol, ce qui diminue la stabilité des formes de MAOM (Jilling et al., 2021; Bernard et al., 2022). Cette fragilisation est indépendante des micro-organismes, c'est-à-dire que l'AO agit directement pour fragiliser les différents type de MAOM (Jilling et al., 2021). Dans cette étude, un test préliminaire sur les nanoCLICs C-Fe-Al mis au contact d'AO pendant 48h a montré visuellement une déstructuration de ces nanoCLICs (Annexe 4). Cette fragilisation était plus forte à pH plus faible, suggérant le rôle important des

variations de pH dans la stabilité des nanoCLICs. Une baisse de pH augmente la solubilité des phases amorphes d'Al (Lützenkirchen et al., 2014) et de Fe (Grundl and Delwiche, 1993). La baisse de pH locale et l'ajout de fonctions carboxyliques à la suite des ajouts d'AO pourrait alors déstructurer les nanoCLICs. L'ajout d'AO pourrait fragiliser directement les coprécipités-nanoCLICs et rendre accessible le C aux micro-organismes alors capables de le minéraliser (Bernard et al., 2022). Cependant un priming effect par stimulation de la communauté microbienne ne peut être écarté, puisque le contrôle a une minéralisation du C issu de l'AO à hauteur de 42 %. Cette minéralisation de l'AO peut être une source d'énergie pour les micro-organismes alors capables d'influencer localement le milieu ou bien de sécréter des enzymes pouvant fragiliser les nanoCLICs (Bernard et al., 2022 et toutes les références associées). Ainsi, les nanoCLICs protège le C. Mais cette protection diminue lors de l'interaction avec un exsudat racinaire sous forme d'acide oxalique.

Lors d'ajout d'AO, le priming effect est plus important pour les nanoCLICs naturels que les nanoCLICs synthétiques. Ce priming élevé est expliqué par la minéralisation des nanoCLICs naturels quasi nulle sans ajout d'AO. Mais aussi par les différences entre nanoCLICs naturels et synthétiques discutées en section 5.4.1. En plus de ces différences, la communauté microbienne des nanoCLICs naturels de l'andosol peut être encore présente et « réveillée » dans les microcosmes. Des micro-organismes spécifiques et « adaptés » à minéraliser les MO fragilisées issues des nanoCLICs pourraient être présent dans les nanoCLICs naturels et absent des nanoCLICs synthétiques<sup>1</sup>.

### **5.4.3. Enjeux de la dynamique des coprécipités-nanoCLICs**

Les fractions fines des andosols peuvent avoir un âge très ancien jusqu'au millénaire (Basile-Doelsch et al., 2005; Shimada et al., 2022). Ces fractions fines contiennent en majorité du C sous forme de coprécipités-nanoCLICs (Chapitre 4 ; Cam et al., in prep). L'incubation de nanoCLICs issus d'andosol ne montre aucune minéralisation significative du C. Ainsi, cet effet de protection du C face à la dégradation microbienne explique l'âge élevé des fractions fines d'andosol.

En parallèle, le *priming effect* du C observé sur ces nanoCLICs à lieu sur un temps court *via* une interaction nanoCLICs, acide-oxalique et micro-organismes. La stabilité des liaisons chimiques des nanoCLICs évolue alors en fonction des interactions avec les micro-organismes et les plantes. Les coprécipités de type nanoCLICs pourraient donc participer à une stabilisation du C des sols et, dans le sol rhizosphérique, participer à un cycle du C sur un temps plus court (Figure 9).

---

<sup>1</sup> Pour les raisons de sûreté sanitaire, la culture de micro-organismes tropicaux n'est pas autorisée dans les locaux du CEREGE. C'est pourquoi l'inoculum choisi est issu d'un mélange de sol du territoire français.

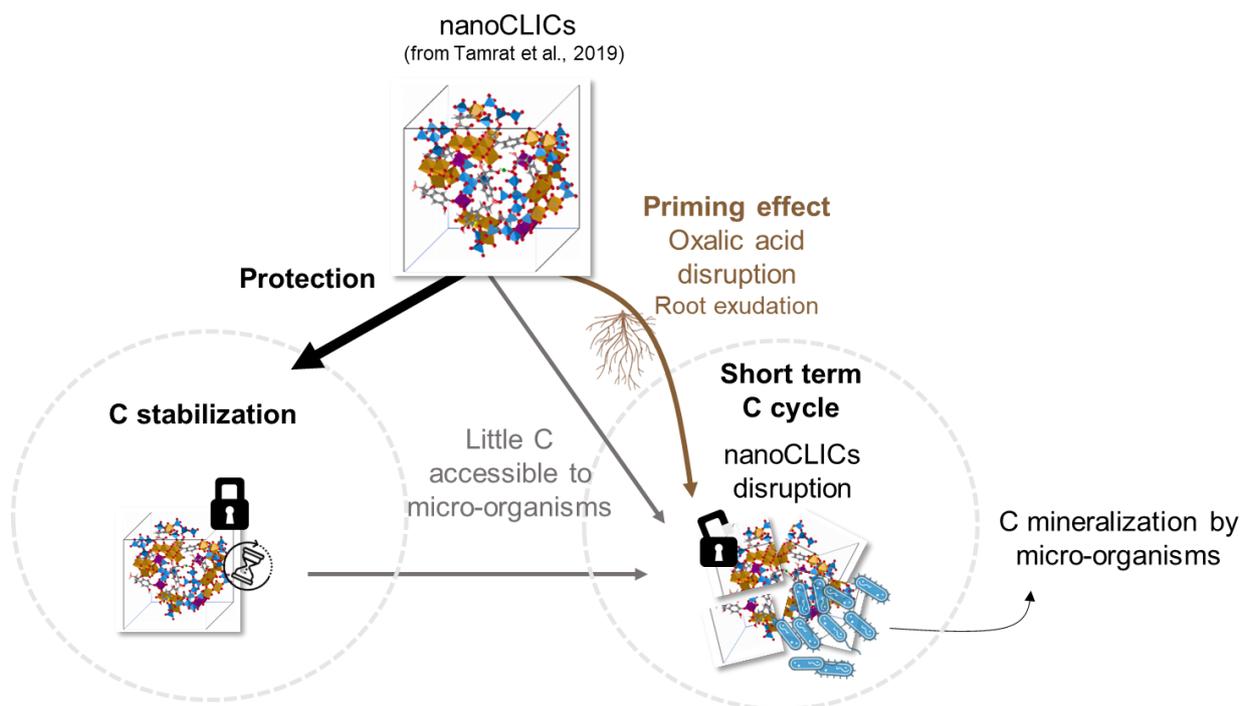


Figure 9. Représentation schématique des nanoCLICs dans le cycle du C dans la rhizosphère d'un andosol. Le C des nanoCLICs est protégé de la dégradation microbienne, ce qui induit une stabilisation du C. Mais le mécanisme nanoCLICs intervient aussi dans un cycle à court terme par des interactions avec des exsudats racinaires (dans cette étude l'acide oxalique) et les micro-organismes.

## 5.5. Conclusion

Les coprécipités-nanoCLICs protègent le C de la minéralisation. Cependant, l'ajout d'un exsudat racinaire, sous forme d'acide oxalique, a augmenté la minéralisation du C : une minéralisation de 17% pour la modalité C-Fe-Al, 12 % pour la modalité C-Al-Si et 9% pour les nanoCLICs naturels (de respectivement 10, 7 et 1% sans ajout d'acide oxalique). Cette augmentation de minéralisation par l'interaction avec de l'acide oxalique est caractérisée comme un priming effect. L'acide oxalique pourrait déstructurer les nanoCLICs, permettant aux micro-organismes d'accéder aux éléments initialement stabilisés. Les coprécipités-nanoCLICs pourraient donc participer à la stabilisation du C des sols, et en même temps, à un cycle du C sur un temps plus court par l'interaction avec un exsudat racinaire.

## 5.6. Références bibliographiques

- Adhikari, D., Dunham-Cheatham, S.M., Wordofa, D.N., Verburg, P., Poulson, S.R., Yang, Y., 2019. Aerobic respiration of mineral-bound organic carbon in a soil. *Sci. Total Environ.* 651, 1253–1260. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.271>
- Angst, G., Mueller, K.E., Nierop, K.G.J., Simpson, M.J., 2021. Plant- or microbial-derived? A review on the molecular composition of stabilized soil organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 156, 108189. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108189>
- Basile-Doelsch, I., Amundson, R., Stone, W.E.E., Borschneck, D., Bottero, J.Y., Moustier, S., Masin, F., Colin, F., 2007. Mineral control of carbon pools in a volcanic soil horizon. *Geoderma* 137, 477–489. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2006.10.006>
- Basile-Doelsch, I., Amundson, R., Stone, W.E.E., Masiello, C.A., Bottero, J.Y., Colin, F., Masin, F., Borschneck, D., Meunier, J.D., 2005. Mineralogical control of organic carbon dynamics in a volcanic ash soil on La Réunion. *Eur. J. Soil Sci.* 56, 689–703. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2005.00703.x>
- Bernard, L., Basile-Doelsch, I., Derrien, D., Fanin, N., Fontaine, S., Guenet, B., Karimi, B., Marsden, C., Maron, P.-A., 2022. Advancing the mechanistic understanding of the priming effect on soil organic matter mineralisation. *Funct. Ecol.* n/a. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.14038>
- Brown, J.C., 1978. Mechanism of iron uptake by plants. *Plant Cell Environ.* 1, 249–257. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1978.tb02037.x>
- Chen, C., Dynes, J.J., Wang, J., Karunakaran, C., Sparks, D.L., 2014. Soft X-ray Spectromicroscopy Study of Mineral-Organic Matter Associations in Pasture Soil Clay Fractions. *Environ. Sci. Technol.* 48, 6678–6686. <https://doi.org/10.1021/es405485a>
- Eusterhues, K., Neidhardt, J., Hädrich, A., Küsel, K., Totsche, K.U., 2014. Biodegradation of ferrihydrite-associated organic matter. *Biogeochemistry* 119, 45–50. <https://doi.org/10.1007/s10533-013-9943-0>
- Eusterhues, K., Rennert, T., Knicker, H., Kögel-Knabner, I., Totsche, K.U., Schwertmann, U., 2011. Fractionation of Organic Matter Due to Reaction with Ferrihydrite: Coprecipitation versus Adsorption. *Environ. Sci. Technol.* 45, 527–533. <https://doi.org/10.1021/es1023898>
- Fontaine, S., Mariotti, A., Abbadie, L., 2003. The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biol. Biochem.* 35, 837–843. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00123-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00123-8)
- Gojon, A., Nacry, P., Davidian, J.-C., 2009. Root uptake regulation: a central process for NPS homeostasis in plants. *Curr. Opin. Plant Biol., Physiology and Metabolism* 12, 328–338. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.04.015>
- Grundl, T., Delwiche, J., 1993. Kinetics of ferric oxyhydroxide precipitation. *J. Contam. Hydrol.* 14, 71–87. [https://doi.org/10.1016/0169-7722\(93\)90042-Q](https://doi.org/10.1016/0169-7722(93)90042-Q)
- Hamer, U., Marschner, B., 2005. Priming effects in different soil types induced by fructose, alanine, oxalic acid and catechol additions. *Soil Biol. Biochem.* 37, 445–454. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.07.037>
- Hinsinger, P., Plassard, C., Tang, C., Jaillard, B., 2003. Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: A review. *Plant Soil* 248, 43–59. <https://doi.org/10.1023/A:1022371130939>
- Inagaki, T.M., Possinger, A.R., Grant, K.E., Schweizer, S.A., Mueller, C.W., Derry, L.A., Lehmann, J., Kögel-Knabner, I., 2020. Subsoil organo-mineral associations under

- contrasting climate conditions. *Geochim. Cosmochim. Acta* 270, 244–263. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2019.11.030>
- Jilling, A., Keiluweit, M., Gutknecht, J.L.M., Grandy, A.S., 2021. Priming mechanisms providing plants and microbes access to mineral-associated organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 158, 108265. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108265>
- Jones, D.L., Dennis, P.G., Owen, A.G., van Hees, P.A.W., 2003. Organic acid behavior in soils – misconceptions and knowledge gaps. *Plant Soil* 248, 31–41. <https://doi.org/10.1023/A:1022304332313>
- Jones, D.L., Edwards, A.C., 1998. Influence of sorption on the biological utilization of two simple carbon substrates. *Soil Biol. Biochem.* 30, 1895–1902. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(98\)00060-1](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(98)00060-1)
- Keiluweit, M., Bougoure, J.J., Nico, P.S., Pett-Ridge, J., Weber, P.K., Kleber, M., 2015. Mineral protection of soil carbon counteracted by root exudates. *Nat. Clim. Change* 5, 588–595. <https://doi.org/10.1038/nclimate2580>
- Kleber, M., Nico, P.S., Plante, A., Filley, T., Kramer, M., Swanston, C., Sollins, P., 2011. Old and stable soil organic matter is not necessarily chemically recalcitrant: implications for modeling concepts and temperature sensitivity. *Glob. Change Biol.* 17, 1097–1107. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02278.x>
- Kunito, T., Isomura, I., Sumi, H., Park, H.-D., Toda, H., Otsuka, S., Nagaoka, K., Saeki, K., Senoo, K., 2016. Aluminum and acidity suppress microbial activity and biomass in acidic forest soils. *Soil Biol. Biochem.* 97, 23–30. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.02.019>
- Kuzyakov, Y., Friedel, J.K., Stahr, K., 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1485–1498. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00084-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00084-5)
- Levard, C., Doelsch, E., Basile-Doelsch, I., Abidin, Z., Miche, H., Masion, A., Rose, J., Borschneck, D., Bottero, J.-Y., 2012. Structure and distribution of allophanes, imogolite and proto-imogolite in volcanic soils. *Geoderma* 183–184, 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2012.03.015>
- Li, H., Bölscher, T., Winnick, M., Tfaily, M.M., Cardon, Z.G., Keiluweit, M., 2017. Simple Plant and Microbial Exudates Destabilize Mineral-Associated Organic Matter via Multiple Pathways. *Environ. Sci. Technol.* 55, 3389–3398. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c04592>
- Lützenkirchen, J., Abdelmonem, A., Weerasooriya, R., Heberling, F., Metz, V., Marsac, R., 2014. Adsorption of dissolved aluminum on sapphire-c and kaolinite: implications for points of zero charge of clay minerals. *Geochem. Trans.* 15, 9. <https://doi.org/10.1186/1467-4866-15-9>
- Meunier, J.-D., Cornu, S., Keller, C., Barboni, D., 2022. The role of silicon in the supply of terrestrial ecosystem services. *Environ. Chem. Lett.* 20, 2109–2121. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01376-8>
- Miltner, A., Bombach, P., Schmidt-Brücken, B., Kästner, M., 2012. SOM genesis: microbial biomass as a significant source. *Biogeochemistry* 111, 41–55. <https://doi.org/10.1007/s10533-011-9658-z>
- Porras, R.C., Hicks Pries, C.E., Torn, M.S., Nico, P.S., 2018. Synthetic iron (hydr)oxide-glucose associations in subsurface soil: Effects on decomposability of mineral associated carbon. *Sci. Total Environ.* 613–614, 342–351. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.290>
- Possinger, A.R., Bailey, S.W., Inagaki, T.M., Kögel-Knabner, I., Dynes, J.J., Arthur, Z.A., Lehmann, J., 2020. Organo-mineral interactions and soil carbon mineralizability

- with variable saturation cycle frequency. *Geoderma* 375, 114483. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114483>
- Saidy, A.R., Smernik, R.J., Baldock, J.A., Kaiser, K., Sanderman, J., 2015. Microbial degradation of organic carbon sorbed to phyllosilicate clays with and without hydrous iron oxide coating. *Eur. J. Soil Sci.* 66, 83–94. <https://doi.org/10.1111/ejss.12180>
- Schmidt, M.W.I., Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I.A., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D.A.C., Nannipieri, P., Rasse, D.P., Weiner, S., Trumbore, S.E., 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* 478, 49–56. <https://doi.org/10.1038/nature10386>
- Shimada, H., Wagai, R., Inoue, Y., Tamura, K., Asano, M., 2022. Millennium timescale carbon stability in an Andisol: How persistent are organo-metal complexes? *Geoderma* 417, 115820. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2022.115820>
- Tamrat, W.Z., Rose, J., Grauby, O., Doelsch, E., Levard, C., Chaurand, P., Basile-Doelsch, I., 2018. Composition and molecular scale structure of nanophases formed by precipitation of biotite weathering products. *Geochim. Cosmochim. Acta* 229, 53–64. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2018.03.012>
- Tsai, H.-H., Schmidt, W., 2017. One way. Or another? Iron uptake in plants. *New Phytol.* 214, 500–505. <https://doi.org/10.1111/nph.14477>
- Wallace, A., Mueller, R.T., 1980. Calcium uptake and distribution in plants. *J. Plant Nutr.* 2, 247–256. <https://doi.org/10.1080/01904168009362774>
- Wood, M., 1995. A mechanism of aluminium toxicity to soil bacteria and possible ecological implications, in: Date, R.A., Grundon, N.J., Rayment, G.E., Probert, M.E. (Eds.), *Plant-Soil Interactions at Low PH: Principles and Management: Proceedings of the Third International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low PH, Brisbane, Queensland, Australia, 12–16 September 1993, Developments in Plant and Soil Sciences.* Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 173–179. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-0221-6\\_25](https://doi.org/10.1007/978-94-011-0221-6_25)
- Zimmerman, A.R., Chorover, J., Goynes, K.W., Brantley, S.L., 2004. Protection of Mesopore-Adsorbed Organic Matter from Enzymatic Degradation. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4542–4548. <https://doi.org/10.1021/es035340+>
- Zimmermann, M., Leifeld, J., Fuhrer, J., 2007. Quantifying soil organic carbon fractions by infrared-spectroscopy. *Soil Biol. Biochem.* 39, 224–231. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.07.010>

## 5.7. Annexes

### Annexes 1. Expérience préliminaire : détermination de l'impact du nombre de mesures de CO<sub>2</sub> successives (e.g. dépression dans les incubateurs) sur la minéralisation du C de DOPA.

La mesure de CO<sub>2</sub> requiert le prélèvement de 5 ml d'air dans chaque pot. Une dépression peut donc se créer dans les pots par de multiples prélèvements. Dans l'expérience préliminaire ci-dessous, un test de remplacement par de l'hélium à la suite de prélèvements par l'analyseur de CO<sub>2</sub> ne montre pas de différence significative de minéralisation de la DOPA après 7 prélèvements successifs (Figure A). Nous avons donc estimé que la dépression créée par les prélèvements n'affecte pas significativement la respiration microbienne jusqu'à 7 prélèvements successifs. Par mesure de précaution et pour une aération plus régulière, nous avons limité à 4 prélèvements successifs dans l'expérience menée en Partie 5.

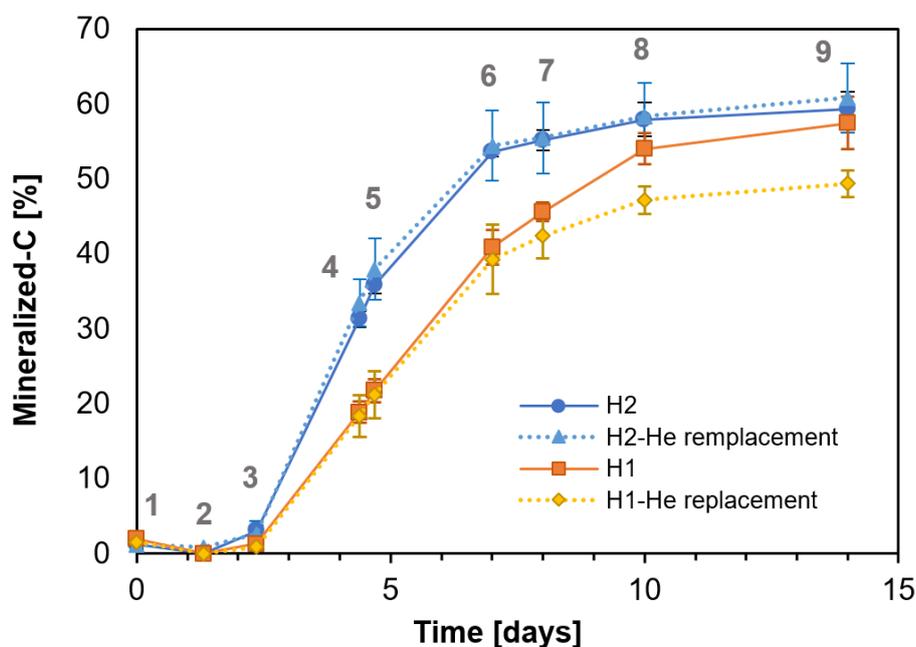
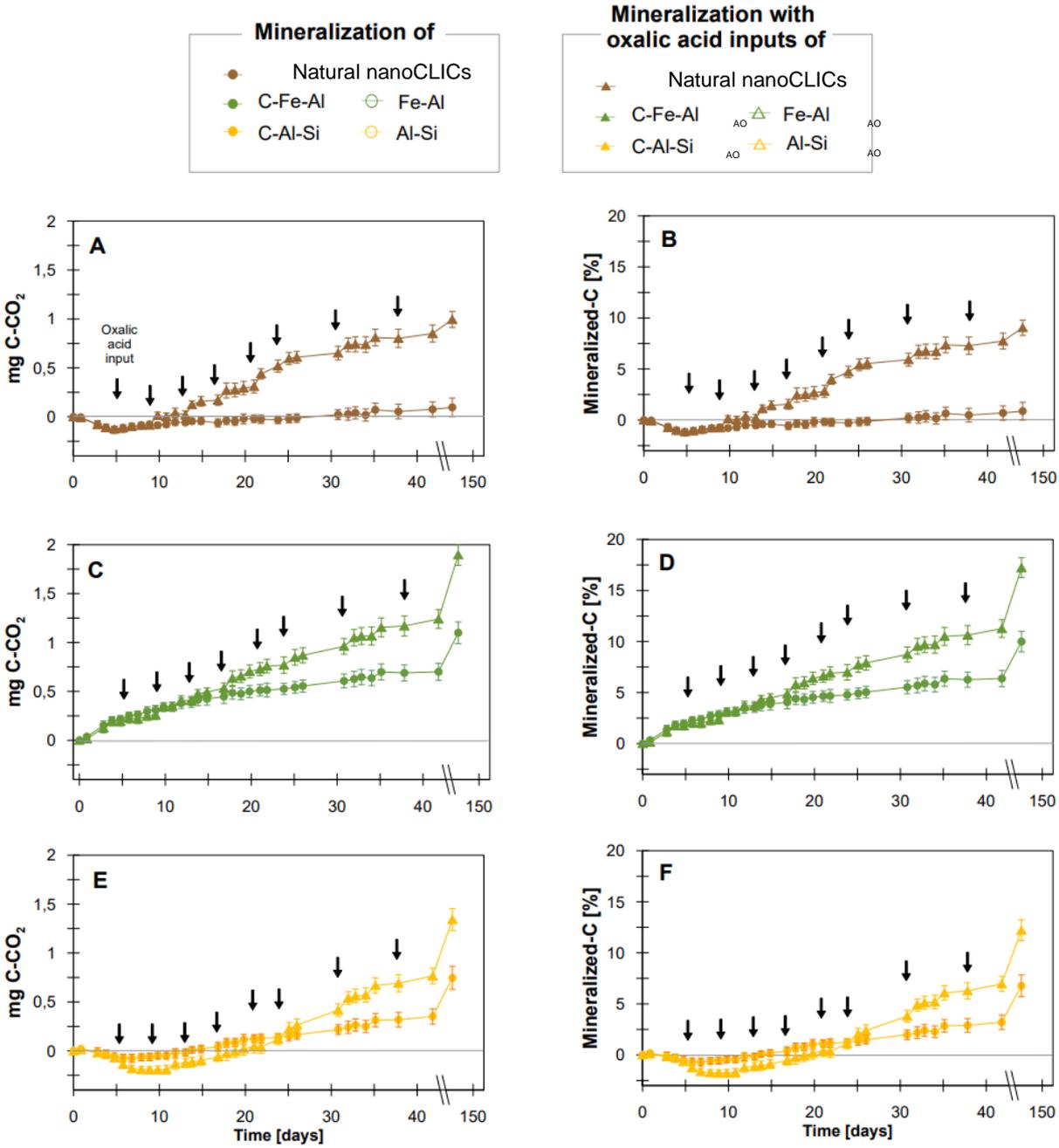
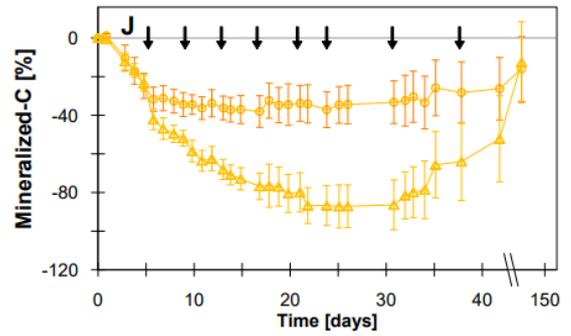
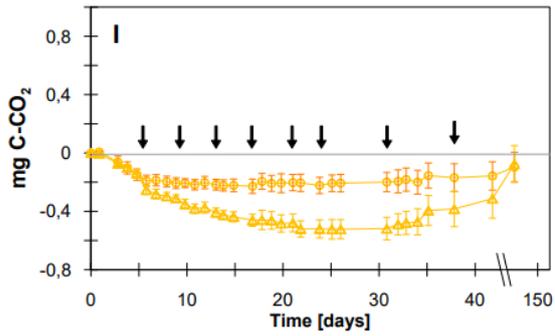
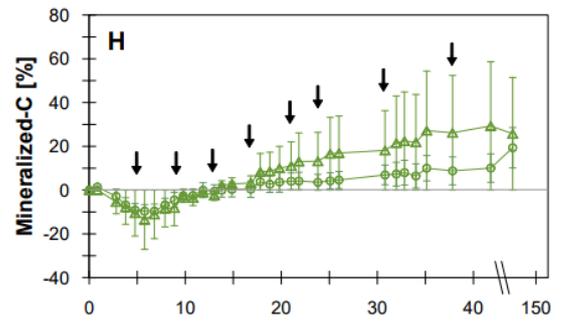
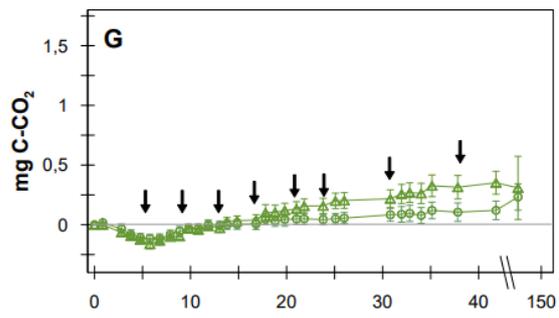


Figure A. Test de dépression maximale par prélèvements successifs de 5 ml. Test effectué sur 2 mg de C sous forme de DOPA dans 1g de quartz calciné et suivant 2 teneurs en humidité H1 et H2 (humidité massique de respectivement de 25 et 15%). Écart-type de 2 valeurs. Les chiffres 1 à 9 indiquent le nombre de prélèvements successifs.

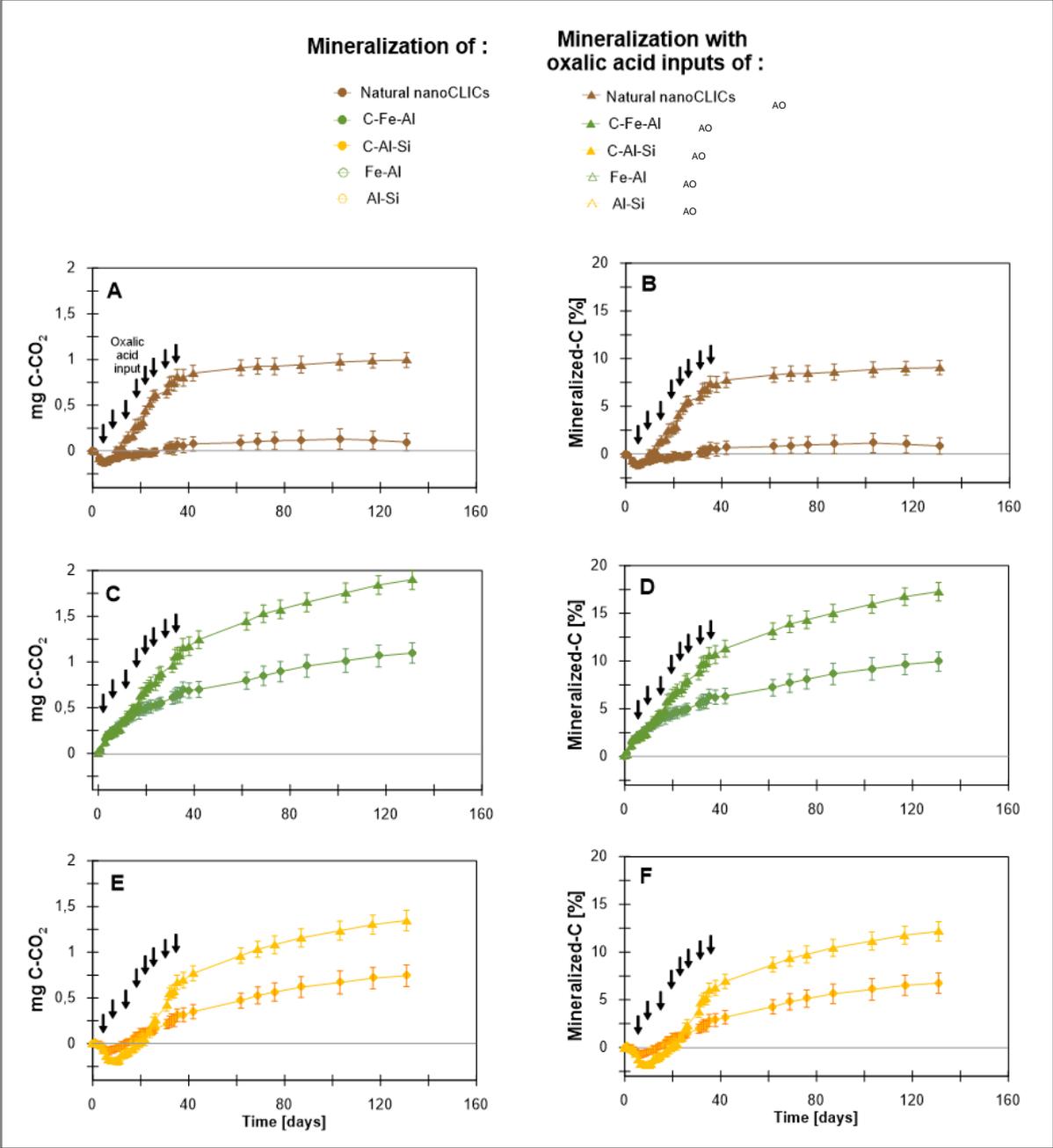
**Annexe 2. Quantité de C minéralisé cumulé des nanoCLICs naturels et synthétiques avec ajouts d'acide oxalique.** Écart-type de 3 répétitions expérimentales. Les ajouts d'acide oxalique (AO) sont figurés par une flèche noire (↓). La quantité de C-CO<sub>2</sub> issu des nanoCLICs est calculée par soustraction du La quantité de C-CO<sub>2</sub> issu des nanoCLICs est calculée par soustraction du *Control\_min* ou *Control\_oxalic\_acid* lors d'ajouts d'AO (méthode 2.5).



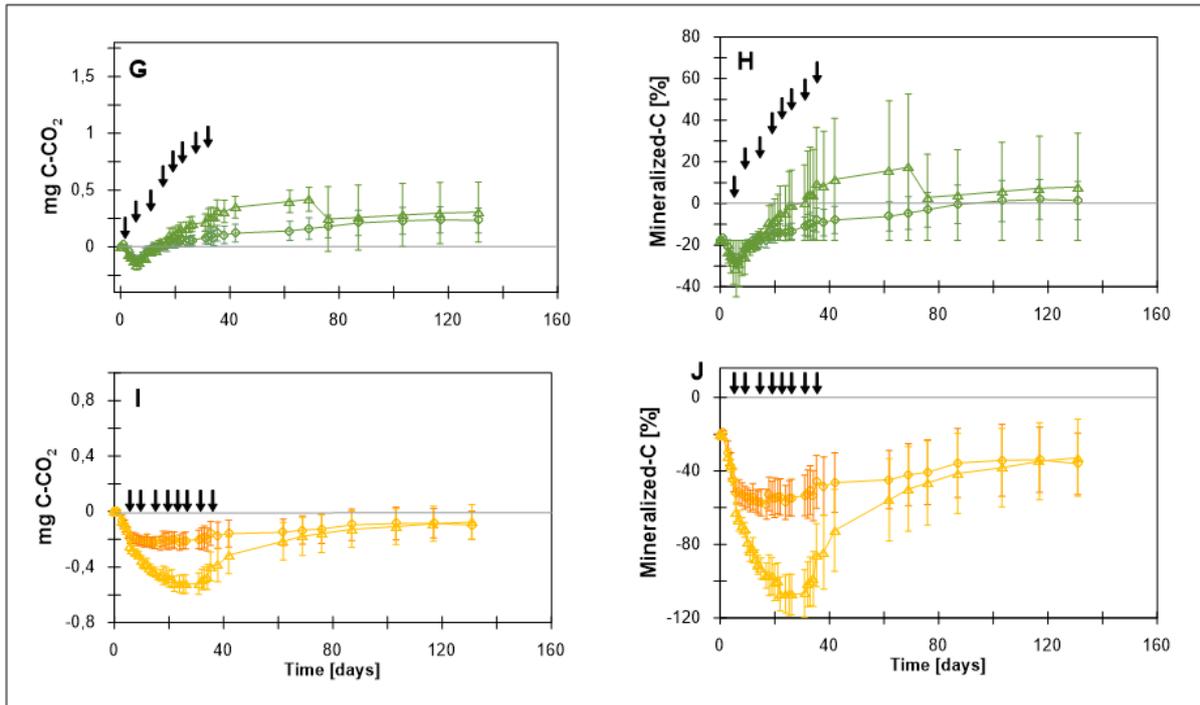
Annexe 2. Suite.



**Annexe 3. Quantité de C minéralisé cumulé des nanoCLICs naturels et synthétiques avec ajouts d'acide oxalique (axe non coupé).** Écart-type de 3 répétitions expérimentales. Les ajouts d'acide oxalique (AO) sont figurés par une flèche noire (↓). La quantité de C-CO<sub>2</sub> issu des nanoCLICs est calculée par soustraction du *Control\_min* ou *Control\_oxalic\_acid* lors d'ajouts d'AO (méthode 2.5).

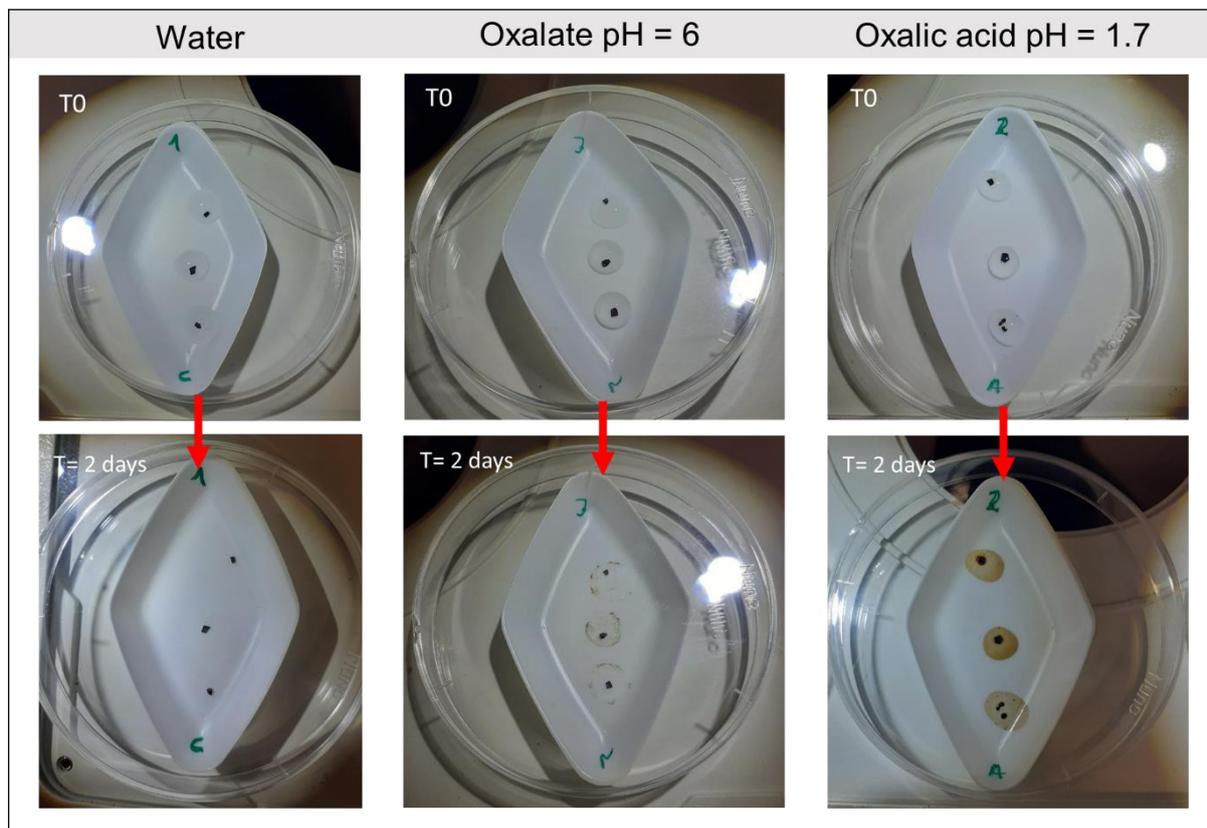


### Annexe 3. Suite



#### Annexe 4. Test préliminaire d'ajout d'acide oxalique et d'oxalate sur les nanoCLICS C-Fe-Al.

Nous avons testé une possible altération des nanoCLICs C-Fe-Al par contact avec de l'eau ultra pure, de l'acide oxalique à pH 1.7 et de l'oxalate à pH 6. La concentration en C de l'acide oxalique et l'oxalate était égale à  $75 \mu\text{gC} \cdot 50\mu\text{L}^{-1}$ . Chaque fragment de nanoCLICs C-Fe-Al était en contact de  $50 \mu\text{L}$  de solution. Le pKa 1 et le pKa 2 de l'acide oxalique sont respectivement à pH 1.2 et 4.3, la protonation de l'acide oxalique et de l'oxalate était donc différente. Après 2 jours, aucune altération des nanoCLICs n'est remarquée en contact avec de l'eau. Alors que le contact avec de l'acide oxalique et de l'oxalate montre une altération des nanoCLICs. Visuellement, l'intensité de cette altération était plus forte pour l'acide oxalique que pour l'oxalate. Ce test préliminaire nous a permis (i) d'attester une altération chimique des nanoCLICs par l'acide oxalique et l'oxalate et (ii) d'attester de l'importance du pH dans cette altération. Pour l'expérience menée dans le Chapitre 5, l'acide oxalique a été ajouté à pH 4.6 pour se situer entre le pKa 1 et pKa 2 de l'acide mais aussi afin de représenter le pH autour certaines racines (Hinsinger et al., 2003).



Hinsinger, P., Plassard, C., Tang, C., Jaillard, B., 2003. Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: A review. *Plant Soil* 248, 43–59. <https://doi.org/10.1023/A:1022371130939>



## 6. Synthèse, conclusions et perspectives de recherches

L'étude de coprécipités dans des fractions fines d'andosols et dans des systèmes synthétiques permet de conclure sur (i) leur(s) structure(s) et la nature des interactions élémentaires ainsi que sur (ii) leurs fragilisations/déstructurations liés à des évolutions physico-chimiques. Aussi, (iii) l'apports de fertilisants organiques (OF) sur un andosol permet de discuter de l'impact des OF sur les coprécipités. Ces trois thématiques sont abordées ci-dessous et représentées par un schéma conceptuel de synthèse (Figure 1) :

### 6.1. La nature des coprécipités

L'étude d'un andosol, sur l'ensemble du profil de sol, a montré que le C est majoritairement sous forme de coprécipités (Chapitre 2). Les coprécipités comportent diverses MO et des éléments inorganiques amorphes plutôt de type nanoCLICs (Chapitre 2 et 4). Dans ces coprécipités-nanoCLICs, les éléments peuvent être liés par des liaisons covalentes entre des cations métalliques (Al/Fe) et des fonctions de molécules organiques (cathécol/carboxyle) et par un piégeage des molécules organiques dans des structures inorganiques amorphes (Chapitre 4B). Ainsi, nous supposons que les éléments inorganiques issus de l'altération minérale et des molécules organiques co-précipitent dans les andosols. Ces coprécipités-nanoCLICs stabilisent le C de l'andosol étudié puisque cette association diminue très significativement l'accessibilité du C (et possiblement d'autres éléments tel que l'N et le P) aux micro-organismes du sol (Chapitre 5).

Le processus d'altération minérale relarguant des éléments inorganiques nanométriques de concert avec un processus de dégradation de matières/molécules organiques, n'est pas spécifique aux andosols. Les solutions de sols comportent divers éléments organiques et inorganiques (Strobel et al., 2001 ; Kaiser et al., 2002). De plus, en laboratoire, le processus de coprécipitation est réalisé pour des MO très diverses et divers éléments inorganiques : Al, Fe, Si, Mg, etc (Chapitre 4 et 5 ; Eusterhues et al., 2011; C Chen et al., 2014; Tamrat et al., 2018, 2019; Possinger et al., 2021; Lenhardt et al., 2022; Cam et al., in prep). Ainsi un processus de coprécipitation, potentiellement de type nanoCLICs, pourrait avoir lieu dans divers types de sols. L'une des perspectives de recherche de ce travail de thèse serait d'essayer de déterminer la présence de coprécipités, notamment de type nanoCLICs, dans d'autres types de sol, et possiblement, de quantifier l'importance de ces coprécipités.

## 6.2. Fragilisation/déstructuration des coprécipités

La mise en culture d'un andosol a induit une perte de C issus de coprécipités-nanoCLICs jusqu'à 30 cm de profondeur (Chapitre 2). La baisse de pH du sol, reflète des changements de conditions physico-chimiques qui pourraient être à l'origine d'une déstructuration/fragilisation de coprécipités contenant du C, mais aussi de l'Al, du Si et du Fe (Chapitre 2). En parallèle, l'ajout d'acide oxalique (un exsudat racinaire) a déstructuré/fragilisé des coprécipités-nanoCLICs, dont le C est rendu accessible aux micro-organismes alors capables de le minéraliser (Chapitre 5). Cette déstructuration est suspectée d'être issue de la baisse de pH locale et de l'apport de fonctions carboxyliques par l'ajout d'acide oxalique. Ainsi, le C des coprécipités-nanoCLICs pourrait être accessible aux micro-organismes dans des *hot-spots* de bouleversements de conditions physico-chimiques.

Aussi, suite à d'une déstructuration de nanoCLICs, des éléments comme le Fe ou le Si pourraient être, en partie, libérés dans la solution du sol et possiblement accessibles aux racines. Le Fe et le Si sont des éléments essentiels pour certaines plantes (Brown, 1978; Meunier et al., 2022). Une seconde perspective de recherche serait d'étudier si le Fe et le Si issus de nanoCLICs fragilisés est accessible aux plantes.

## 6.3. L'apport de fertilisants organiques peut-il former des coprécipités ?

L'apport de matières organiques sous forme de compost et de lisier sur un andosol n'a pas montré une détection de C additionnelle dans les fractions fines durant 15 ans d'apport continu (pas d'augmentation quantitative de C dans les fractions fines de l'andosol amendé). Au contraire, ces fractions fines ont une plus faible quantité de C que les fractions fines de l'andosol sans apport d'OF dans l'horizon le 0-20 cm. En parallèle, la quantité d'Al, de Fe et aussi de Si extraits par pyrophosphate sur le sol bulk est aussi plus faible dans les sols amendés sur l'horizon 0-20 cm. Ces changements conjoints nous poussent à considérer une quantité de coprécipités différentes entre l'andosol amendé et non amendé. Toutefois, de nombreux changements ne permettent pas d'identifier si (i) des coprécipités sont déstabilisés par des bouleversements physico-chimiques (augmentation de pH) par les apports d'OF ou bien si (ii) l'andosol non-amendé a une augmentation de quantité de C coprécipité. Une perspective (projet MITI en cours) de ce travail serait d'analyser l'âge par analyse de  $^{14}\text{C}$  du C des fractions fines de l'andosol amendé et non amendé. Ces âges moyens pourraient permettre de savoir si les fractions fines du sol contrôle sont aussi « jeunes » que celle du sol amendé. Et ainsi pouvoir trancher entre les deux hypothèses.

Aussi, les fractions inférieures à 20  $\mu\text{m}$  comportent un peu de OF-C dans l'arénosol (dans l'horizon 0-10 cm pour les apports de compost et dans l'horizon 0-20 cm pour les

apports de lisier) et dans l'andosol (dans l'horizon 0-10 cm). A ce jour nous ne savons pas si ce C issu du compost est (i) associé à des minéraux ou (ii) bien sous forme de POM inférieures à 20  $\mu\text{m}$ . Une autre perspective de ce travail serait d'essayer de distinguer la forme du OF-C dans ces fractions fines, afin de déterminer s'il est stabilisé ou non.

Pour conclure, la coprécipitation de matières organiques avec des éléments inorganiques issus de l'altération minérale, sous forme de nanoCLICs, est possible dans certains sols. Les coprécipités-nanoCLICs participent à la stabilisation des matières organiques de ces sols. L'importance de cette forme de stabilisation dans divers types de sols et son temps de formation reste inconnus. Cependant, par leur stabilité, ils pourraient contribuer au stockage de C des sols.



## 6.4. Références bibliographiques

- Brown, J.C., 1978. Mechanism of iron uptake by plants. *Plant Cell Environ.* 1, 249–257. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1978.tb02037.x>
- Chen, C., Dynes, J.J., Wang, J., Sparks, D.L., 2014. Properties of Fe-organic matter associations via coprecipitation versus adsorption. *Environ. Sci. Technol.* 48, 13751–13759. <https://doi.org/10.1021/es503669u>
- Eusterhues, K., Rennert, T., Knicker, H., Kögel-Knabner, I., Totsche, K.U., Schwertmann, U., 2011. Fractionation of Organic Matter Due to Reaction with Ferrihydrite: Coprecipitation versus Adsorption. *Environ. Sci. Technol.* 45, 527–533. <https://doi.org/10.1021/es1023898>
- Kaiser, K., Guggenberger, G., Haumaier, L., Zech, W., 2002. The composition of dissolved organic matter in forest soil solutions: changes induced by seasons and passage through the mineral soil. *Org. Geochem.* 33, 307–318. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(01\)00162-0](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(01)00162-0)
- Lenhardt, K.R., Breitzke, H., Buntkowsky, G., Mikutta, C., Rennert, T., 2022. Interactions of dissolved organic matter with short-range ordered aluminosilicates by adsorption and co-precipitation. *Geoderma* 423, 115960. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2022.115960>
- Meunier, J.-D., Cornu, S., Keller, C., Barboni, D., 2022. The role of silicon in the supply of terrestrial ecosystem services. *Environ. Chem. Lett.* 20, 2109–2121. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01376-8>
- Possinger, A.R., Zachman, M.J., Dynes, J.J., Regier, T.Z., Kourkoutis, L.F., Lehmann, J., 2021. Co-precipitation induces changes to iron and carbon chemistry and spatial distribution at the nanometer scale. *Geochim. Cosmochim. Acta* 314, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2021.09.003>
- Rasmussen, C., Heckman, K., Wieder, W.R., Keiluweit, M., Lawrence, C.R., Berhe, A.A., Blankinship, J.C., Crow, S.E., Druhan, J.L., Hicks Pries, C.E., Marin-Spiotta, E., Plante, A.F., Schädel, C., Schimel, J.P., Sierra, C.A., Thompson, A., Wagai, R., 2018. Beyond clay: towards an improved set of variables for predicting soil organic matter content. *Biogeochemistry* 137, 297–306. <https://doi.org/10.1007/s10533-018-0424-3>
- Strobel, B.W., Hansen, H.C.B., Borggaard, O.K., Andersen, M.K., Raulund-Rasmussen, K., 2001. Composition and reactivity of DOC in forest floor soil solutions in relation to tree species and soil type. *Biogeochemistry* 56, 1–26. <https://doi.org/10.1023/A:1011934929379>
- Tamrat, W.Z., Rose, J., Grauby, O., Doelsch, E., Levard, C., Chaurand, P., Basile-Doelsch, I., 2019. Soil organo-mineral associations formed by co-precipitation of Fe, Si and Al in presence of organic ligands. *Geochim. Cosmochim. Acta* 260, 15–28. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2019.05.043>