



**ÉCOLOGIE VÉGÉTALE  
ET MICROBIENNE**  
Département Biologie,  
Écologie, Évolution  
Professeur M. CARNOL

---

Subvention 01/07/2024-31/03/2025  
Entre le Service public de Wallonie et l'Université de Liège

**ÉTUDE À LONG TERME DE LA BIOGÉOCHIMIE DES  
ÉCOSYSTÈMES FORESTIERS**

**Rapport d'activité final, mars 2025**

**B. BOSMAN, S. RATCLIFFE et M. CARNOL**

Responsable scientifique : Prof. Monique Carnol  
Collaboratrice externe : Dr. Sophia Ratcliffe  
Équipe de recherche : Bernard Bosman, scientifique  
Thérèse Aldenhof, technicienne

## Table des matières

Table des matières .....	2
A. Fiche descriptive.....	3
A1. Justification et objectifs .....	3
A2. Méthode retenue .....	4
A3. Résultats attendus (par le COPIL initialement).....	5
A4. Durée et coûts (acceptés par le COPIL initialement) .....	5
A5. Calendrier 2024-2025 initial .....	5
A6. Personnel scientifique et technique si possible (ETP, Titre, H.mois effectif, H.mois effectif cumulé) .....	6
A7. Documents et/ou outils (livrables) à produire (volet ACRVF) - Support DNF et/ou DEMNA (Volet actions de recherche d'intérêt publiques suivies par le DNF et le DEMNA) .....	6
B. Rapport de l'action de recherche .....	7
B1. Synthèse des activités de recherche du Laboratoire d'écologie végétale et microbienne	7
B2. Introduction/contexte.....	9
B3. Matériel et méthodes .....	12
B3.1. Évaluation de l'évolution de la résilience de deux bassins versants forestiers .....	12
B3.2 Qualité / santé / biodiversité microbienne des sols forestiers.....	16
B4. Résultats et discussion .....	22
B4.1. Évaluation de l'évolution de la résilience de deux bassins versants forestiers .....	22
B4.2. Biodiversité des micro-organismes dans des sols forestiers sous hêtre et épicéa ..	36
B5. Valoriser et disséminer les résultats des recherches .....	56
B6. Documents et/ou outils (livrables) produits et à produire modifiés le cas échéant et raisons.....	56
B7. Collaborations diverses (tous niveaux confondus) .....	56
B8. Autres références éventuellement citées (bibliographie utilisée le cas échéant).....	57

## A. Fiche descriptive

Cette recherche a été successivement financée par des subventions annuelles du SPW (Département du Développement ; Direction Générale opérationnelle de l'agriculture, des Ressources Naturelles et de l'Environnement), depuis 2020 dans le cadre du Plan quinquennal de Recherches et Vulgarisation forestières 2019-2024 de la Région Wallonne, et actuellement, pour une durée de 9 mois, dans le cadre du Plan quinquennal de Recherches et Vulgarisation forestières 2024-2029 de la Région Wallonne.

### A1. Justification et objectifs

#### **Contexte scientifique : Analyse intégrée de l'effet des pratiques sylvicoles sur la santé, la biodiversité et la biogéochimie des sols forestiers wallons : une perspective à long terme dans le cadre des changements globaux**

La santé des écosystèmes forestiers résulte d'une interaction entre de nombreux paramètres, dont la biodiversité aérienne et souterraine, le climat, les activités humaines. Une forêt en bonne santé est ainsi associée à une biodiversité animale et végétale élevée, une diversité d'habitats, des arbres d'âges différents et de l'eau de bonne qualité. Ces propriétés permettent une résistance et résilience élevées aux stress, limitant ainsi les risques liés au dépérissement, aux sécheresses, et à l'attaque de pathogènes. Les crises environnementales passées et présentes ont mis en évidence l'importance cruciale des écosystèmes forestiers et la **nécessité d'études holistiques à long terme pour comprendre leur dynamique et leur fonctionnement.**

Dans ce cadre, la Commission européenne a élaboré une proposition pour un nouveau cadre de surveillance des forêts au niveau européen. La construction de forêts résilientes nécessite, entre autres, de tirer parti de la richesse des connaissances provenant des programmes existants d'inventaire et de surveillance sur le terrain. Cela permet de mieux évaluer l'état des forêts, de détecter les changements, de comprendre les processus, de prédire les dynamiques futures et d'orienter la gestion forestière (Feretti et al., 2024). Ainsi, l'analyse de l'évolution des paramètres biogéochimiques face aux changements climatiques permet d'identifier des signaux d'alerte précoce indiquant une variation de la résilience de l'écosystème

Les sols sont, globalement, la base de 16 des 24 services écosystémiques listés dans le « Millennium Ecosystem Assessment ». En particulier, les sols forestiers, ressources non renouvelables, jouent un rôle vital dans nutrition des arbres. Leur biodiversité a été associée à la résilience et à la stabilité structurelle des sols face aux perturbations. La compréhension de la santé et de la biodiversité des sols est essentielle pour la sélection, la plantation et la croissance d'arbres en bonne santé à long terme. **La santé des sols est donc une préoccupation majeure pour assurer la santé des forêts wallonnes**, en préservant leur résilience face aux pressions anthropiques et environnementales.

## **Missions**

Le cadre budgétaire et opérationnel d'une subvention de 9 mois ne permet pas d'initier de nouvelles recherches, en plus des mesures de monitoring obligatoires. Aussi, un monitoring à long terme ne permet pas une nouvelle analyse originale des données chaque année. Néanmoins, nous proposons de focaliser les recherches de ces 9 mois sur la thématique de la résilience de l'écosystème forestier, concentré sur deux axes :

- Monitoring à long terme de la biogéochimie de deux bassins versants ; acquisition de données pour NEC (Directive UE n° 2016/2284) et analyse de la résilience : l'analyse statistique des données biogéochimiques acquises à long terme permet une évaluation de l'évolution de la résilience de l'écosystème. L'acquisition des données dans le cadre de la directive NEC (Directive UE n° 2016/2284) est continue, pour un rapportage en 2028. La base de données constituée au cours des subventions successives sur plus de 30 ans est un outil exceptionnel pour investiguer des processus lents (conséquences des changements climatiques, conséquences d'un changement des essences forestières, effets à long terme d'un amendement, effets chroniques de la pollution) et une source d'information unique pour la Wallonie. Les données sont utilisées dans le cadre du calcul de charges critiques en polluants acidifiants et eutrophisants (Convention sur la pollution atmosphérique transfrontière à longue distance -PATLD ; directive EU 2001/81/CE abrogé par la directive 2016/2284 du 1/7/2018).
- Analyse de la diversité microbienne de sols sous hêtre et épicéa en Ardenne : des échantillons prélevés et conservés lors de la subvention précédente permettent, avec l'intervention d'un.e étudiant.e et d'un technicien ULiège non financés par la subvention, de mener une étude pilote sur la biodiversité microbienne de sols forestières wallons. Ces échantillons ont été prélevés dans des placettes 'ICP forest' et de l'Inventaire permanent. Les mesures d'activités microbiennes (ULiège) et l'évaluation des risques nutritionnels (UCLouvain) ont été réalisées lors du précédent plan quinquennal sur les mêmes sites. L'analyse proposée constitue donc une première étape d'analyse intégrative de la qualité des sols en vue de l'établissement d'éventuel liens avec des données de dépérissement des peuplements.

Les deux thématiques proposées sont en accord avec des initiatives européennes concernant le développement d'une loi de surveillance des sols et le développement d'un règlement-cadre pour une surveillance coordonnée des forêts de l'Union européenne.

## **A2. Méthode retenue**

Les activités prévues du programme de recherche, dans la continuité des mesures commencées dans les subventions précédentes, sont les suivantes :

1. Échantillonnage de terrain et entretien des installations (récolte mensuelle des pluies, des pluviolessivats, et de l'eau à l'exutoire des bassins versants de la

Robinette et de Waroneu, 168 échantillons, chaque mois, plus entretien tous les 15 jours)

2. Filtration et préparation des échantillons pour analyse
3. Analyses chimiques (25 éléments)
4. Gestion des données, contrôle qualité et calculs (encodage et vérification des résultats de chaque appareil d'analyse et des volumes récoltés, création des fichiers mensuels, compilation des fichiers mensuels en fichiers annuels avec contrôle qualité et encodage dans la base de données finale)
5. Analyse des données (analyse de résilience)
6. Extraction d'ADN des échantillons stockées (30 échantillons, horizon organique)
7. Amplification et séquençage
8. Traitement bio-informatique et statistique
9. Rédaction du rapport de recherche

### **A3. Résultats attendus (par le COPIL initialement)**

s.o.

### **A4. Durée et coûts (acceptés par le COPIL initialement)**

Il n'y a pas eu de réunion de COPIL pour cette subvention

Une subvention de 9 MOIS : du 1<sup>er</sup> juillet 2024 au 31 mars 2025 : 168683 euros

### **A5. Calendrier 2024-2025 initial**

	2024						2025		
	7	8	9	10	11	12	1	2	3
1. Échantillonnage	x	x	x	x	x	x	x	x	x
2. Préparation pour analyse	x	x	x	x	x	x	x	x	x
3. Analyses chimiques	x	x	x	x	x	x	x	x	x
4. Gestion des données	x	x	x	x	x	x	x	x	x
5. Analyse de résilience (écosystème)		x	x	x	x				
6. Extraction ADN				x					
7. Amplification et séquençage					x	x			
8. Bio-info						x	x	x	
9. Rapport								x	x
10. Comités			x				x		

**A6. Personnel scientifique et technique si possible (ETP, Titre, H.mois effectif, H.mois effectif cumulé)**

Nom	ETP	Titre	Financement (volet du plan)	H.mois effectif 24-25	H.mois effectif
Bernard Bosman	100%	Lic.	Subvention intégrée, DEMNA	9	9
Assia Tahiri	80%	Technicienne	Subvention intégrée, DEMNA	2	Maladie à pd 1/8/24
Thérèse Aldenhof	100% depuis janvier 2025	Technicienne	Subvention intégrée, DEMNA	3	
Sophia Ratcliffe	1/11/24-31/3/25	Dr Spécialiste sous-traitant		99 jours	

**A7. Documents et/ou outils (livrables) à produire (volet ACRVF) - Support DNF et/ou DEMNA (Volet actions de recherche d'intérêt publiques suivies par le DNF et le DEMNA)**

- Base de données (mise à jour par année civile, voir activités point 4)
- Rapport de recherche
- Soumission d'un article scientifique dans une revue internationale et publication d'au moins un article de vulgarisation (Lettre de l'observatoire, Forêt.Nature)
- Collecte de données pour le rapportage 2028 de NEC (Directive UE n° 2016/2284) (5 parcelles - mensuellement : 60 échantillons, 690 analyses chimiques, volumes ; 1 exutoire - bimensuellement : 2 échantillons, 30 analyses chimiques, volumes ; moyennes mensuelles de la température du sol et de l'eau) du sol et de l'eau)
- Non prévu dans la subvention : données nécessaires aux calculs des **charges critiques** transmises pour les 5 dernières années au SITEREM, pluviollessivats, pluies et eaux des exutoires (les seules disponibles pour la Wallonie)

## **B. Rapport de l'action de recherche**

### **B1. Synthèse des activités de recherche du Laboratoire d'écologie végétale et microbienne**

Les sols, les organismes qui y vivent, et les processus qui s'y déroulent sont essentiels pour la santé des écosystèmes forestiers, car ils sont à la base de la nutrition des arbres et, par conséquent, de leur productivité ainsi que de leur résistance et résilience au stress. Pour que les écosystèmes forestiers soient durables, la santé des sols doit être préservée. C'est pourquoi la santé des sols est une priorité dans les politiques européennes actuelles. Les grandes stratégies de l'Union européenne — telles que la stratégie forestière pour 2030, la stratégie européenne pour les sols, la stratégie biodiversité et le Pacte vert pour l'Europe (Green Deal) — reconnaissent toutes le rôle fondamental des sols dans la transition écologique. De plus, la récente proposition de directive sur la surveillance des sols traduit ces ambitions en obligations concrètes pour les États membres. Dans ce contexte, les recherches sur la santé des sols forestiers apportent des connaissances essentielles pour éclairer les décisions de gestion, orienter les politiques publiques et contribuer à la durabilité des forêts européennes.

Les recherches présentées dans ce rapport abordent la qualité et la résilience des écosystèmes forestiers et leurs sols par deux approches innovantes complémentaires :

- (1) l'analyse de l'évolution (33 ans) des concentrations en éléments à l'exutoire de deux bassins versants, données qui intègrent les conséquences de l'évolution des polluants, la gestion forestière, l'ensemble des conditions environnementales (y compris le climat) et les processus de transformation de la matière organique qui ont lieu dans le sol
- (2) l'analyse des acteurs de la transformation de la matière organique du sol, c'est-à-dire la diversité microbienne moléculaire de sols dans des hêtraies et pessières de Wallonie.

#### *Surveiller la santé des forêts grâce aux signaux d'alerte précoce*

Dans un contexte de changements climatiques accélérés et de pressions croissantes sur les écosystèmes forestiers, anticiper les déséquilibres devient crucial. Les signaux d'alerte précoce (ou Early Warning Signals – EWS) permettent de détecter des signes d'instabilité des systèmes avant que les perturbations ne deviennent irréversibles. Nous avons appliqué le concept des EWS à l'étude biogéochimique (chimie des eaux des exutoires de 1992 à 2023) de deux bassins versants forestiers, localisés en Ardenne et Haute Ardenne belge. Les résultats issus des EWS ont été interprétés dans le contexte de la gestion forestière appliquée et de l'évolution du climat, appréhendée à travers l'indice SPEI, un indice de sécheresse. Notre étude révèle des périodes critiques de bascule écologique ou de perte de résilience dans les deux bassins versants forestiers de La Robinette et de Waroneu. Dans les deux bassins versants, on peut distinguer trois phases. La première phase est caractérisée par des signaux d'alerte indiquant une déstabilisation pour le Ca, K et Mg, potentiellement liée à une coupe rase suivi de replantations avec diversification du couvert forestier (La Robinette, en 1996) ou un

amendement calcaro-magnésien (Waroneu, en 1992). La deuxième phase est caractérisée par une stabilisation. L'alerte la plus préoccupante concerne la période plus récente (2015–2023). Dans les deux bassins, des signaux réapparaissent, sans lien direct avec une intervention forestière identifiable. Ils coïncident avec les épisodes de sécheresse intense documentés par l'indice climatique SPEI, ce qui suggère que le climat devient un moteur majeur d'instabilité, capable de faire basculer l'équilibre biogéochimique de l'écosystème. Les transitions chimiques détectées (perte de calcium, diminution du pH, mobilisation de sulfates) peuvent précéder des problèmes visibles : ralentissement de croissance, dégradation racinaire, dépérissement.

### *Analyser la résilience du sol par l'étude de la biodiversité microbienne*

Les micro-organismes du sol (bactéries, champignons, archées) représentent une part invisible mais essentielle de la biodiversité forestière. Ce sont eux qui décomposent la matière organique, rendent les nutriments disponibles, stimulent la croissance des arbres via les mycorhizes, influencent le stockage de carbone et filtrent l'eau. En d'autres termes, ils sont les ingénieurs souterrains de la forêt. L'analyse de la biodiversité microbienne, la résilience écologique des communautés et leur redondance fonctionnelle fournit des outils puissants pour diagnostiquer l'état de santé des sols forestiers. Nous avons mesuré la diversité microbienne moléculaire sous deux essences dominantes (hêtre vs épicéa) et dans deux horizons (organique vs minéral) à travers 30 sites localisés en Ardenne belge. Des indicateurs robustes comme les indices de Shannon, Chao1, la résilience fonctionnelle et la redondance fonctionnelle ont été calculés à partir des matrices de données de séquençage haut débit.

Les analyses révèlent que la diversité et la résilience des micro-organismes dépendent fortement de la stratification des horizons, et dans une moindre mesure de l'essence forestière. Les champignons présentent la plus grande richesse spécifique, particulièrement dans les horizons organiques, dominés par des saprotrophes et endophytes, avec une forte redondance fonctionnelle et résilience. Les bactéries, bien que très riches, montrent une diversité et une résilience stables entre essences et horizons, portées par quelques phyla dominants. L'absence de différences significatives s'expliquerait par une hétérogénéité fonctionnelle intra-phylum, suggérant l'intérêt d'analyses plus fines. Les archées, moins diversifiées, se concentrent dans les horizons minéraux, notamment sous épicéa, et jouent un rôle potentiel dans les cycles de l'azote et du carbone. Ces résultats soulignent l'importance, pour la gestion forestière, de protéger les horizons organiques, en particulier sous feuillus, afin de maintenir la diversité microbienne et la résilience des fonctions édaphiques. Une gestion favorisant la diversité de la litière, la stratification du sol et la mixité des essences pourrait ainsi renforcer la stabilité fonctionnelle des écosystèmes forestiers face aux perturbations.

Globalement, nos résultats démontrent que les études sur l'adaptation des forêts aux changements climatiques, comme le choix des essences ou la migration assistée, devraient s'appuyer également sur des connaissances en biogéochimie, ainsi que sur la diversité et l'activité microbienne des sols, qui influencent directement la résilience et le bon fonctionnement des écosystèmes.

## B2. Introduction/contexte

Le dépérissement forestier observé au début des années 1980 a mis en lumière les enjeux liés à la santé des forêts. Initialement attribué uniquement aux effets directs de la pollution atmosphérique acide (les « pluies acides »), les recherches ont révélé que le déclin forestier résulte de causes multifactorielles, incluant des stress liés aux extrêmes climatiques, aux ravageurs, ainsi qu'à la pollution atmosphérique. Dans nos régions, ces dépôts acides aggravent l'appauvrissement des sols, déjà fragiles, entraînant une détérioration de la nutrition minérale des arbres (Weissen et al., 1990). Cette problématique a conduit au calcul de 'charges critiques' (doses maximales admissibles) pour les écosystèmes forestiers, et à des mesures de réduction des polluants atmosphériques au niveau européen. Aussi, des réseaux de surveillance de l'état sanitaire des arbres et de l'évolution des polluants atmosphériques ont été mis en place. Le suivi de la pollution atmosphérique est actuellement effectué dans le cadre de la directive NEC (UE n° 2016/2284), à laquelle nos données apportent leur contribution.

Actuellement, nos forêts sont soumis à non seulement aux effets direct et cumulatifs différés des polluants atmosphériques, dont les niveaux ont globalement diminué (Waldner et al., 2014), mais également aux impacts croissants des changements climatiques. La résilience d'un écosystème forestier est sa capacité à absorber les perturbations, tout en maintenant ses fonctions et sa structure, en évitant un basculement vers un état alternatif moins favorable. Elle implique la résistance aux changements, la capacité de récupération après une perturbation et la prévention des transitions écologiques irréversibles (Holling, 1973). En intégrant les principes de résilience dans les pratiques de gestion, on peut développer des stratégies plus robustes pour restaurer les forêts dégradées, anticiper les risques et minimiser les impacts futurs des changements climatiques. Ainsi, l'étude de la résilience est essentielle pour évaluer la capacité des forêts à faire face aux défis actuels et futurs, tout en préservant leur fonctionnalité, leur biodiversité et les services écosystémiques fournis. La résilience des écosystèmes forestiers est étroitement liée aux processus biogéochimiques, qui régulent les flux de nutriments et l'équilibre des cycles biogéochimiques (comme le carbone et l'azote). Cependant, à ce jour, seule une étude publiée traite spécifiquement de cet aspect (Nikinmaa et al., 2020).

La perte de résilience d'un écosystème peut être détectée à travers certains **signaux d'alerte précoce** (*Early Warning Signals*, EWS), qui reposent sur l'hypothèse que les caractéristiques des données acquises sur le long terme d'un système (« séries temporelles ») subissent des modifications spécifiques avant qu'un changement de régime ne se produise (Contosta et al., 2023). Parmi ces signaux, plusieurs paramètres statistiques ont été identifiés comme des indicateurs robustes d'une perte de stabilité écologique à l'approche d'un point de bascule :

1. **L'augmentation de l'autocorrélation temporelle** : lorsqu'un système perd en résilience, les valeurs successives d'une série temporelle deviennent de plus en plus corrélées, ce qui signifie que les anomalies persistent plus longtemps et que la récupération après une perturbation devient plus lente. Ce phénomène s'explique par le fait qu'un système en bonne santé revient rapidement à son état d'équilibre après une perturbation, ce qui implique une faible autocorrélation des valeurs mesurées dans le temps. À l'inverse, lorsque la résilience diminue,

le retour à l'équilibre devient plus lent, et l'autocorrélation entre les observations successives augmente, signalant une inertie croissante du système.

2. **L'augmentation de la variance** : une plus grande variabilité des valeurs mesurées indique un système moins stable, oscillant davantage entre différents états avant une éventuelle transition.

3. **Des modifications de l'asymétrie (skewness) et du coefficient d'aplatissement (kurtosis)** : une augmentation du *kurtosis* suggère une fréquence accrue d'événements extrêmes, tandis qu'une modification du *skewness* peut indiquer un déplacement progressif de l'état du système vers un nouveau régime.

Ces changements statistiques sont directement liés au **ralentissement critique (Critical Slowing Down, CSD)** (Forzieri et al., 2022), un phénomène clé qui traduit la perte de résilience d'un système approchant un seuil critique. Le **ralentissement critique** se manifeste par une **diminution de la vitesse de récupération**, signifiant que le système met de plus en plus de temps à retrouver un état d'équilibre après une perturbation.

Dans cette recherche, nous évaluons la résilience biogéochimique de deux bassins versants forestiers d'environ 80 ha chacun, grâce aux données portant sur 33 années de recherche. L'application des **signaux d'alerte précoce et du concept de ralentissement critique aux séries temporelles des concentrations d'éléments chimiques à l'exutoire** peut offrir une méthode puissante pour détecter des transitions écologiques. En effet, les concentrations d'éléments peuvent être fortement influencées par des modifications du couvert forestier, des variations climatiques ou des événements extrêmes. Une augmentation progressive de l'autocorrélation temporelle et une réduction du taux de récupération de ces paramètres chimiques pourraient alors être interprétées comme des signes avant-coureurs d'un changement systémique.

Un deuxième volet de cette subvention concerne l'étude de l'influence du couvert forestier sur la **diversité des micro-organismes du sol** par méthode moléculaire. La diversité microbienne moléculaire joue un rôle fondamental dans le fonctionnement et la résilience des écosystèmes forestiers. Elle reflète la richesse et la composition des communautés microbiennes à l'échelle génétique, offrant ainsi une perspective fine sur les interactions micro-organismes-environnement. Grâce aux avancées des techniques de biologie moléculaire, notamment le séquençage de nouvelle génération, il est désormais possible de caractériser la diversité fonctionnelle et taxonomique des communautés microbiennes. Cette diversité peut être influencée par la composition en essences des forêts, chaque type d'arbre contribuant à une structure spécifique du microbiome en raison de ses caractéristiques physico-chimiques (litière, rhizosphère, exsudats racinaires). Comprendre ces interactions est essentiel pour appréhender les processus biogéochimiques tels que la décomposition de la matière organique, le recyclage des nutriments et la régulation des flux de carbone et d'azote, contribuant ainsi à la stabilité et à la résilience des écosystèmes forestiers face aux perturbations environnementales. En Wallonie, aucune donnée n'est actuellement disponible concernant la diversité microbienne moléculaire en fonction des essences forestières, ce qui limite notre compréhension des

dynamiques microbiennes et de leur rôle dans la résilience des écosystèmes. Dans cette recherche, nous analysons la diversité microbienne moléculaire sous hêtre et épicéa dans des parcelles localisées en Wallonie, prélevés et conservés lors d'une subvention précédente.

Les objectifs de cette recherche sont :

- Analyser la résilience biogéochimique de deux bassins versants forestiers grâce aux 'signaux d'alerte précoces' (EWS, Early warning signs)
- Évaluer le lien entre l'évolution temporelle des indicateurs EWS (variance, autocorrélation, asymétrie), les actions de gestion forestière et le climat (via l'indice SPEI (Standardized Precipitation-Evapotranspiration Index))
- Évaluer l'influence des essences de hêtre et d'épicéa sur la diversité microbienne du sol à l'échelle moléculaire, à partir d'analyses menées sur 30 sites localisés en Ardenne et Haute-Ardenne

## B3. Matériel et méthodes

### B3.1. Évaluation de l'évolution de la résilience de deux bassins versants forestiers

#### Sites d'études et échantillonnage

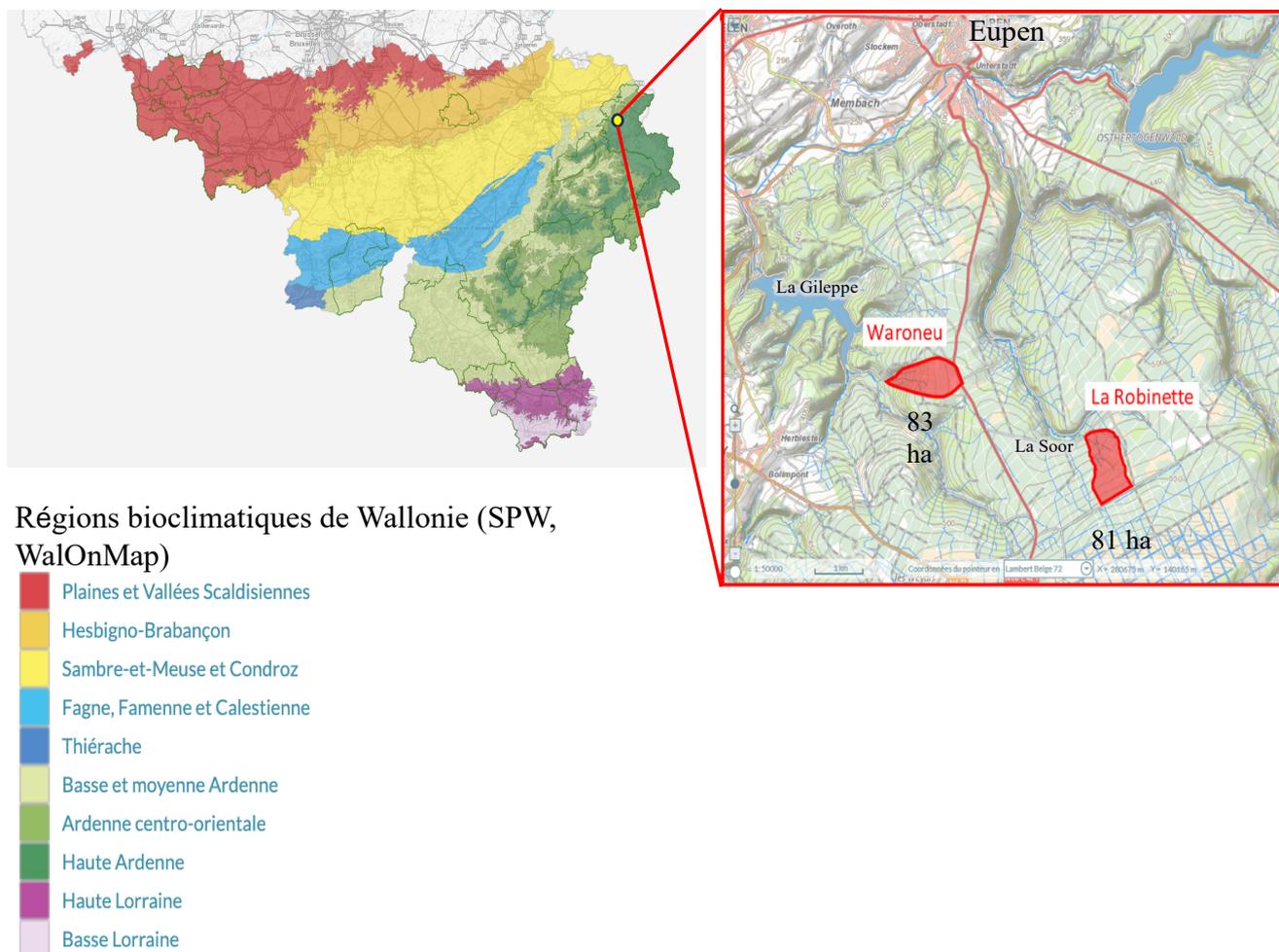


Fig. 1 : Localisation des bassins versants « la Robinette » et « Waroneu »

Les recherches sont réalisées dans deux bassins versants forestiers, chacun d'environ 80 hectares, situés dans l'Hertogenwald (Haute Ardenne et Ardenne centro-orientale (Fig. 1)) : Waroneu (<https://deims.org/eb9a51f2-bed4-4c6a-8269-49b180708e2a>) et La Robinette (<https://deims.org/450ecc48-b748-49da-8b33-7955854bda78>) (Ratcliffe et al., 2018). Ces écosystèmes, initialement dominés par des peuplements de conifères (99 % pour La Robinette et 60 % pour Waroneu), ont fait l'objet de diverses interventions sylvicoles. Parmi celles-ci, un amendement calcaro-magnésien appliqué à Waroneu en 1992, une coupe à blanc de 22 hectares réalisée à La Robinette en 1996, suivie d'un reboisement en 1998, intégrant des parcelles de mélange de feuillus. Depuis 2013, 14 placettes d'étude intensives (7 par bassin versant) ont été installées, en s'appuyant sur les principales unités végétation-sol identifiées dans chaque site (Fig. 2, Fig. 3) (Ratcliffe et al., 2018). Une placette supplémentaire sous épicéas, mise en place à La Robinette en 1990, légèrement à l'extérieur du bassin versant été maintenue (hors carte).

Parmi les 15 placettes, deux placettes sont 'à découvert' (pluies), celle de Waroneu est située dans une prairie en bordure sud du bassin versant.

Les pluies et pluviollessivats sont récoltés mensuellement depuis 1990, initialement uniquement à découvert et sous épicea dans les deux bassins versant, et depuis 2013 sous d'autres essences présentes dans les bassins versants. Les eaux s'écoulant à l'exutoire des deux bassins versants sont collectées quotidiennement depuis 1990 à l'aide d'un échantillonneur automatique, tandis que le débit est mesuré en continu. Des analyses chimiques sont réalisées sur des échantillons semi-mensuels, reconstitués à partir des prélèvements journaliers, en tenant compte des volumes d'eau mesurés quotidiennement (Tableau 1).

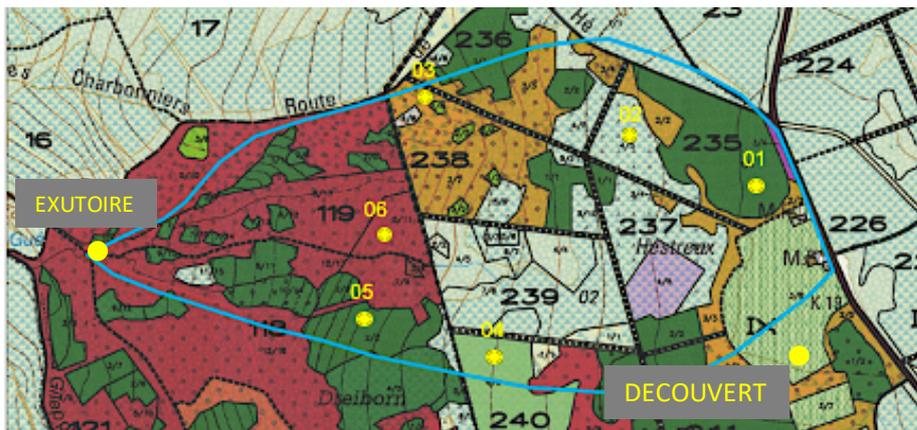


Fig. 2 : Disposition des 7 placettes d'étude intensives du bassin versant de Waroneu ;  
01 : épicéas adultes (1906) sur sol hydromorphe, désinstallée en 2022,  
02 : essences en mélange sur sol hydromorphe ; entre 2013 et 2017 à découvert,  
03 : chênes (1885) sur sol brun acide,  
04 : épicéas jeunes (1995) sur sol hydromorphe,  
05 : épicéas adultes (1935) sur sol brun acide ; désinstallée en 2020,  
06 : hêtres (1860) sur sol brun acide en pente,  
Découvert.

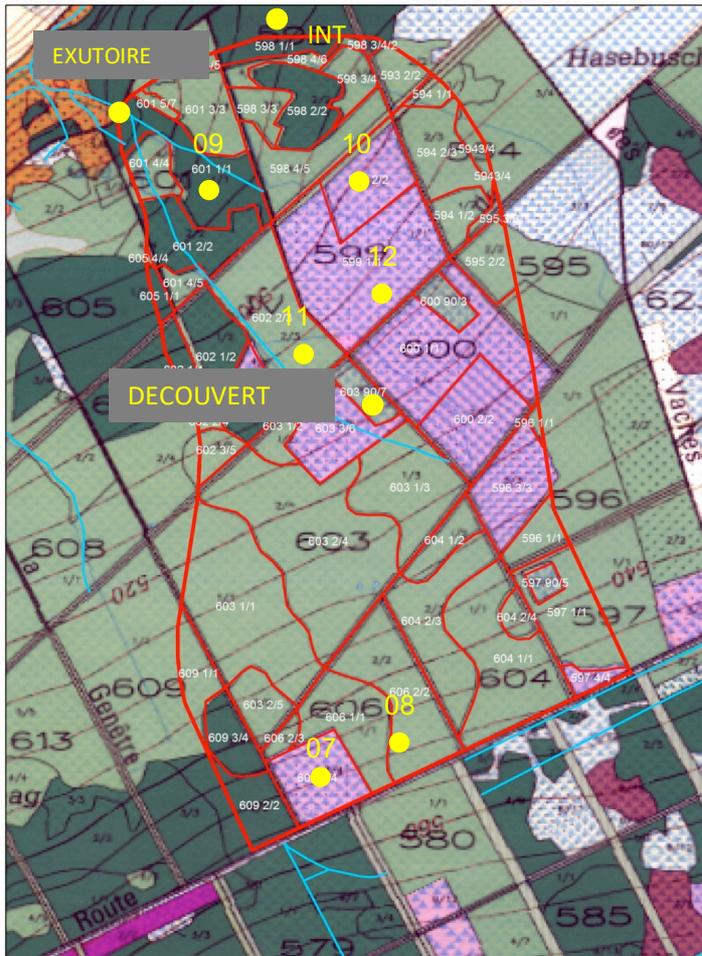


Fig. 3 : Disposition des 8 placettes d'étude intensives du bassin versant de la Robinette ;  
 07 : parcelle 1, essences en mélange sur sol hydromorphe (1999),  
 08 : épicéas (1998) sur sol hydromorphe,  
 09 : épicéas adultes (1930) sur sol brun acide,  
 10 : parcelle 4, essences en mélange sur sol brun acide (1999),  
 11 : mélange épicéas de sitkas / épicéas (1985) sur sol hydromorphe,  
 12 : découvert mixte sur sol hydromorphe  
 INT : épicéas adultes (1930) sur sol brun acide,  
 Découvert.

Mesures	Localisation	Répétitions	Fréquence	Données depuis
Exutoires	Waroneu La Robinette	1 par bassin versant	Journalier, agrégé à semi-mensuel	1990
Pluies à découvert	2 placettes ; 1 à Waroneu 1 à La Robinette	6 répétitions par bassin versant	Mensuel	1990
Pluiolessivats	13 placettes ; 6 à Waroneu 7 à La Robinette	6 répétitions par placette	Mensuel	RI (Robinette épicéas) et W01 (Waroneu épicéas) depuis 1990 ; les autres depuis 2013
Solution du sol	13 placettes ; 6 à Waroneu 7 à La Robinette	8 répétitions par placette	Mensuel	Depuis 2013
Données météorologiques	La Robinette (zone à découvert)			Depuis mars 2022

Tableau 1 : récapitulatif des mesures réalisées.

### *Analyses chimiques*

Dans les échantillons d'eau (pluies, pluiolessivats, solution du sol, eau à l'exutoire), l'acidité est mesurée à l'aide d'un pH-mètre et, après filtration (MN 615), les cations sont dosés par spectrométrie d'émission atomique (ICP-AES : Varian Vista à torche axiale depuis 1998 ; Agilent, 5100 depuis 2018), l'ammonium et les phosphates par méthode colorimétrique au moyen d'un auto-analyseur (Bran et Luebbe), les anions (nitrates, sulfates, chlorures) par HPLC (High Performance Liquid Chromatography Merck Hitachi L6200 et UV detector L4000), le carbone organique dissous et l'azote total par un analyseur de carbone (LABTOC TOC Analyser ; Analytikjena Multi N/C 3100 TOC/TN Analyser depuis 2018).

### *Traitement des données et analyses statistiques*

De 1990 à fin 2023, la base de données comprend actuellement 1 879 920 entrées. Ces entrées comprennent 26 données analytiques par échantillon : volume d'eau récoltée, pH, conductivité, les concentrations en carbone organique dissous, N total, Al, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P total, Pb, Si, Cl, N-NO<sub>3</sub>, S-SO<sub>4</sub>, P-PO<sub>4</sub> et N-NH<sub>4</sub>. Pour chaque élément, la moyenne pondérée par le volume et l'écart-type ont été calculés à partir des répétitions dans chaque parcelle pour les précipitations et les pluiolessivats et à chaque moment d'échantillonnage, conformément aux recommandations des protocoles de ICP-Forest (Nieminen, et al., 2020).

La résilience des deux bassins versants forestiers a été analysée via des **signaux d'alerte précoce (Early Warning Signals)**.

**Signaux d'alerte précoce (EWS)** : ils ont été estimés individuellement (*univariés*) pour chaque soluté dans l'exutoire de chaque bassin versant, en utilisant une approche de fenêtre temporelle croissante (*expanding window* ; l'approche des fenêtres glissantes). La phase d'initialisation (« burn-in », correspond au nombre de points de données utilisés pour 'entraîner'

les signaux avant l'évaluation des signaux d'alerte précoce) est de 120 échantillons (soit cinq ans) et ainsi les signaux d'alerte précoce ne sont pas évalués avant 1997.

Cette méthode permet d'identifier un signal d'alerte à un moment donné lorsque les indicateurs dépassent leur moyenne glissante de plus de deux écarts-types, correspondant à un seuil de confiance de 97,5 % (Drake and Griffen, 2010). Les métriques : l'écart-type (sd), l'autocorrélation de premier ordre (AR(1)) et l'asymétrie (skew), ainsi que quatre métriques composites (par exemple : sd + skew, skew + AR(1), etc.), ont été calculées (par exemple, AR(1) + écart-type + asymétrie) en sommant les indicateurs normalisés. Pour chaque fenêtre glissante, les données sont centrées par rapport à la moyenne de la fenêtre, puis divisées par l'écart-type de cette même fenêtre, de sorte que toutes les métriques individuelles (écart-type, asymétrie, autocorrélation AR(1), etc.) soient comparables entre elles. Ces combinaisons de métriques sont reconnues comme signaux plus robustes que les indicateurs pris isolément (Clements and Ozgul, 2018). Pour cela, la méthode uniEWS du package R EWSMETHODS a été utilisée avec une phase de burn-in de 5 ou 10 ans (120 et 240 points). Les deux durées ont été testées, et les résultats présentés ici sont basés sur une phase de 5 ans. Un signal EWS est considéré comme significatif lorsqu'au moins une combinaison d'indicateurs (par exemple : écart-type + asymétrie, ou SD + AR(1), ou les trois combinés) dépasse de deux écarts-types sa moyenne mobile sur plusieurs pas de temps consécutifs.

**L'Indice Standardisé de Précipitations-Évapotranspiration (SPEI)**, développé par Vicente-Serrano et al. (2010), représente l'écart du bilan climatique actuel (précipitations moins évapotranspiration potentielle) par rapport au bilan à long terme, exprimé sous forme d'une variable standardisée (moyenne nulle et variance unitaire). Le SPEI a été calculé à différentes échelles de temps (de 1 à 12 mois) pour surveiller les sécheresses en fonction des différentes ressources en eau utilisables. Les séries SPEI à différentes échelles temporelles représentent le bilan hydrique cumulatif sur l'intervalle de temps considéré (Potop et al., 2014). Une valeur SPEI de zéro indique l'absence de changement par rapport aux valeurs historiques. Des valeurs positives de SPEI indiquent des conditions humides, tandis que des valeurs négatives indiquent des conditions sèches. La période entre l'arrivée des apports en eau et la disponibilité d'une ressource utilisable donnée varie considérablement. Ainsi, l'échelle de temps sur laquelle les déficits en eau s'accumulent devient importante, et permet de distinguer fonctionnellement les sécheresses hydrologiques, environnementales, agricoles et autres.

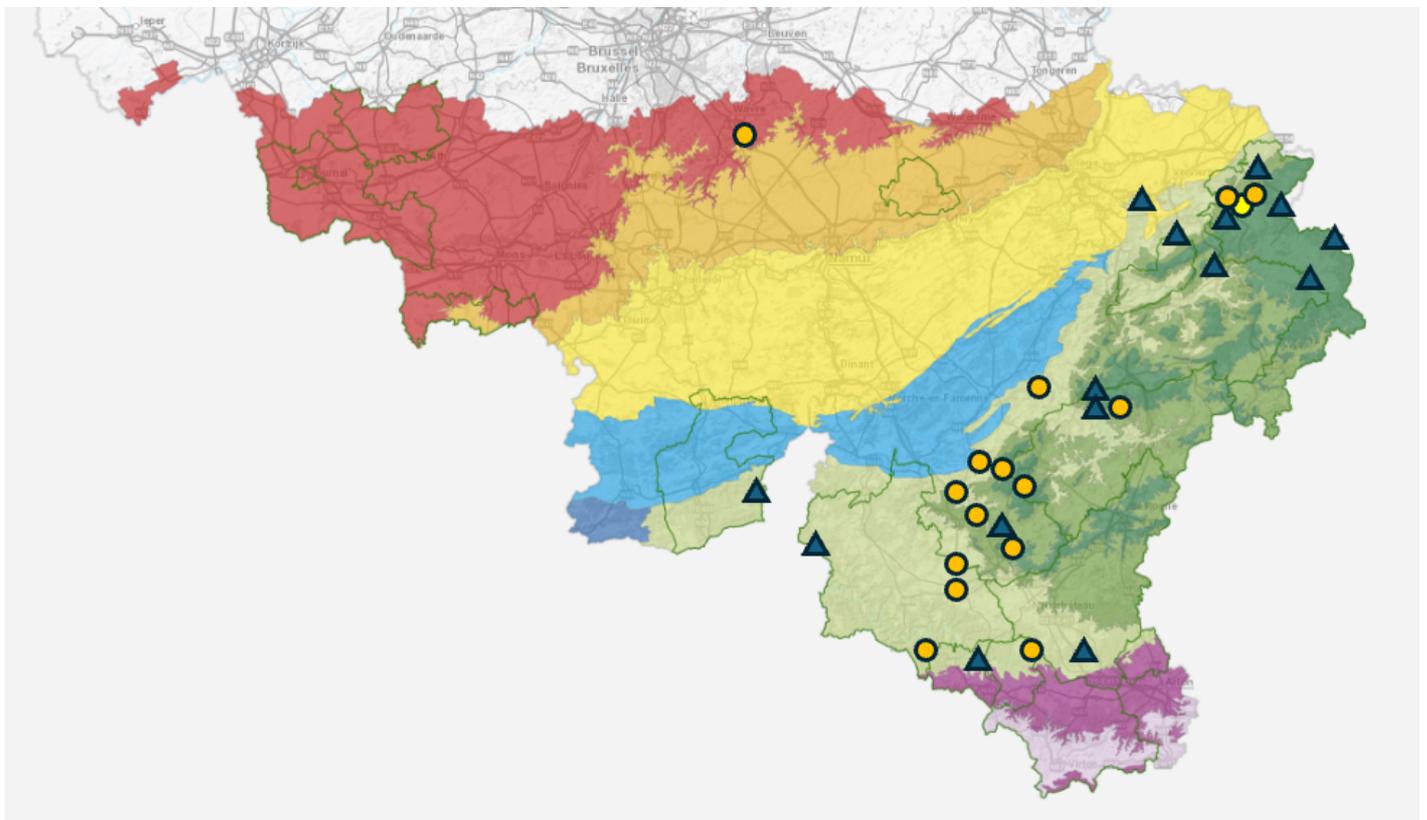
Nous avons extrait les données SPEI pour les années 1992 à 2022 à l'emplacement des deux exutoires de bassin versant à partir de SPEIbase v.2.9 (Beguería et al., 2023). Le calcul de l'évapotranspiration potentielle dans SPEIbase est basé sur la méthode FAO-56 de Penman-Monteith. La résolution spatiale de SPEIbase – 0,5 degré – signifie que le SPEI est identique pour les deux exutoires.

### **B3.2 Qualité / santé / biodiversité microbienne des sols forestiers**

#### ***Sites d'études et échantillonnage***

**Les indicateurs biologiques de la qualité des sols forestiers** ont été mesurés dans l'horizon organique et organo-minéral de 30 sites sous hêtre et épicéa, majoritairement dans les

Ardennes (Bosman and Carnol, 2024). Les sols ont été échantillonnés entre le 6 et le 19 novembre 2020 dans trente placettes, 25 de l’Inventaire Permanent Forestier de la Région Wallonne et 5 placettes du réseau ICP-Forest (Fig. 4, tableau 3). Ces 30 placettes représentent 10 hêtraies et pessières chacune dans des classes de risque nutritionnel 1 ‘risque très faible’, 3 ‘risque modéré’ et 5 ‘risque très fort’ établis sur base de l’analyse en Mg et P de l’horizon 0-20 cm (Joussemet et al., 2023). Dans chaque placette, deux échantillons composites, un de l’horizon organique et un de l’horizon organo-minéral (0-10 cm, Ah/B, dénommé ‘minéral’ par après), issus de 6 carottages avec une tarière de 8 cm de diamètre ont été prélevés (le premier au centre de la placette, ensuite à 2 m du centre vers le Nord, puis 4 m vers l’Est, 6 m vers le Sud, 8 m vers l’Ouest et enfin 10 m vers le Nord). Les échantillons ont été tamisés à 4 mm sur un tamis stérilisé. Un sous-échantillon a été lyophilisé, puis stocké à -20°C pour les analyses de la biodiversité microbienne par des techniques de biologie moléculaire.



- ▲ Épicéas
- Hêtres

*Fig. 4 : situation géographique des 30 sites échantillonnés en novembre 2020 ; les points mauves sont les sites sous hêtre, les noirs sous épicéa.*

Num. éch.	CAROIGN	CARONPL	Réseau	Espèce	Triage	Classe Typologique	Sigle pédologique	Risque Mg / P
1	6812	234	IPRFW	Epicéa	Anlier	12	Gbbfi0_1	Très faible
2	6734	138	IPRFW	Epicéa	Epioux Sud	12	Gbbfi2	Très faible
3			ICP-Forests	Epicéa	Boquillons	12	Gbbz	Très faible
4	6812	34	IPRFW	Hêtre	Suxy	12	Gbbfi0_1	Très faible
5			ICP-Forests	Epicéa	Willerzie	14	Gbbfi0_1	Modéré
6	4278	138	IPRFW	Epicéa	Louveigné	19_20	Gbbr2	Elevé
7	5056	102	IPRFW	Epicéa	Stavelot	14	Gbbf2(q)	Modéré
8	5012	142	IPRFW	Epicéa	Jalhay	21	Gbbr2	Modéré
9	4356	234	IPRFW	Hêtre	Herto MF	21	Gbbr5	Modéré
10	4356	154	IPRFW	Hêtre	Herto Gileppe	14	Gbbf4	Modéré
11	5078	166	IPRFW	Epicéa	Tannheck	12	Gbbfi2	Très faible
12	5034	270	IPRFW	Epicéa	Dickelt	12	Gbbfi0_1	Très faible
13	4378	58	IPRFW	Epicéa	Alt-Hatlich	21	Gbbr2	Modéré
14	4356	262	IPRFW	Epicéa	Eupen	20	Gbbrb4	Elevé
15	5556	298	IPRFW	Epicéa	Bérismenil	19_20	Gbbr0_1	Elevé
16			ICP-Forests	Epicéa	La Roche	20_21	Gbbr2	Modéré
17	5556	30	IPRFW	Hêtre	Rendeux	17_18	Gbbr2	Modéré
18	5578	58	IPRFW	Hêtre	Bérismenil	19	Gbbr2	Elevé
19	5978	310	ICP-Forests	Hêtre	Rouge-Ponce	19	Gbbr0_1	Elevé
20	5978	222	IPRFW	Hêtre	Mormont 1	19	Gbfr2	Elevé
21	5978	142	IPRFW	Hêtre	Mormont 2	18	uGbbr2	Elevé
22			ICP-Forests	Hêtre	Wavre	7	(x)Lba	Modéré
23	5856	194	IPRFW	Epicéa	Marebwais	15	Ghx0_1	Elevé
24	6434	274	IPRFW	Hêtre	Bras	14	Gbbfi0_1	Modéré
25	6434	102	IPRFW	Hêtre	Libin Haut	13	Gbbfi2	Très faible
26	6478	22	IPRFW	Hêtre	Jehonville	12	Gbb0_1	Très faible
27	6478	30	IPRFW	Hêtre	Jehonville	12	Gbbfi2	Très faible
28	6712	218	IPRFW	Hêtre	Quatre Chemins	12_13	Gbbfi0_1	Très faible
29			ICP-Forests	Hêtre	Tellin	19	Gdbr0_1	Elevé
30	6434	206	IPRFW	Epicéa	Vesqueville	20	Gbbr0_1	Elevé

Tableau 3 : Sites échantillonnés pour l'analyse des indicateurs biologiques de la qualité des sols forestiers, numéros de carreaux IGN (CAROIGN), numéros des placettes (CARONPL), réseau (IPRFW : placettes du réseau de l'Inventaire Permanent des Ressources Forestières de Wallonie, ICP-Forests : placettes du réseau 'International Co-operative Programme on Assessment and Monitoring of Air Pollution Effects on Forests'), le lieu du triage, le nom du cantonnement, l'essence dominante sur le site, le numéro de la classe typologique (Ponette et al., 2018), le sigle pédologique, le type d'humus et la classe de risque nutritionnel (Ponette et al., 2020).

## *Analyses de la biodiversité microbienne moléculaire*

### *Extraction d'ADN, amplification PCR et séquençage Illumina MiSeq*

L'ADN génomique a été extrait en triplicat pour chaque échantillon de sol lyophilisé (0,6 g au total par échantillon) en utilisant le kit DNeasy® PowerSoil® Pro QIAcube® (QIAGEN). Après extraction, l'ADN des triplicats a été regroupé pour un volume final de 180 µl par échantillon, puis stockés à -20°C après vérification de leur concentration au Biospec-nano (Shimadzu).

L'amplification par PCR a ciblé trois régions spécifiques (Žifčáková et al., 2016) :

- La région V4 de l'ADN ribosomique 16S bactérien : 515F- 806R
- Les régions V3-V4 de l'ADN ribosomique 16S archéen : 349F - SSU666ArR
- La région ITS2 de l'ADN ribosomique fongique : gITS7- ITS4

Chaque région a été amplifiée avec des amorces spécifiques marquées par des codes-barres uniques. La PCR a été réalisée en triplicat, puis les produits obtenus ont été regroupés et purifiés. La concentration des amplicons a été mesurée avec un fluorimètre Qubit®, puis les bibliothèques d'amplicons ont été préparées avec le kit TruSeq® DNA PCR-Free.

Enfin, le séquençage a été effectué sur la plateforme Illumina MiSeq (2 x 250 paires de bases) à l'Institut de Microbiologie Environnementale de l'Académie des Sciences tchèque.

### *Analyses bio-informatiques*

Les données brutes de séquençage ont été filtrées et traitées avec le pipeline SEED2 2.1.2 (Vetrovský et al., 2018) . Les lectures Illumina ont été assemblées, puis les séquences de mauvaise qualité (qualité moyenne < 30 bases ou contenant des bases ambiguës) ont été éliminées. Les séquences ont ensuite été triées par échantillon grâce aux codes-barres spécifiques.

Les séquences chimériques ont été détectées avec USEARCH et supprimées. Les séquences restantes ont été regroupées en Unités Taxonomiques Opérationnelles (OTUs) à 97 % de similarité. L'identification taxonomique a été réalisée en sélectionnant la séquence la plus abondante de chaque cluster comme séquence représentative.

L'identification des archées et des bactéries a été effectuée par BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), un algorithme de recherche d'alignement local, contre la base de données SILVA 138.1. Les séquences ITS2 fongiques ont été identifiées avec BLASTn contre la base UNITE 10.0. Enfin, les OTUs sans correspondance, non pertinents (non-archées, non-bactéries, non-champignons) ou détectés une seule fois dans l'ensemble des 60 échantillons ont été supprimés.

### *Traitement des données et analyses statistiques*

Les données des unités taxonomiques opérationnelles (OTUs) ont été importées avec leurs abondances brutes, puis associées aux métadonnées des échantillons. Elles ont ensuite été

réorganisées sous un format permettant des analyses de diversité, avec les OTUs en colonnes et les échantillons en lignes.

Afin de normaliser la profondeur de séquençage entre les échantillons et permettre des comparaisons équitables, une raréfaction des données a été réalisée. La profondeur minimale de séquençage ou un seuil arbitraire ont été utilisés pour ajuster les échantillons à une même profondeur à l'aide de la fonction '*rrarefy*' du package '*vegan*' sous R. Une vérification post-raréfaction a été effectuée en confirmant la profondeur d'analyse pour chaque échantillon (*rowSums*). La profondeur minimale de séquençage a été fixée à 5000 pour les bactéries ; à 3000 pour les champignons et à 1000 pour les archées .

### Abondances relatives

Les abondances relatives de la composition des communautés microbiennes ont été estimées à partir des tables OTU raréfiées (profondeur uniforme par échantillon). Pour chaque échantillon, les occurrences d'OTUs ont été regroupées par classe taxonomique (champignons et archées) ou par phylum (bactéries), selon les assignations taxonomiques issues des fichiers de référence. La contribution de chaque classe ou phylum a ensuite été exprimée comme proportion du total des occurrences d'OTUs par échantillon. Pour faciliter la comparaison, les 10 classes ou phyla les plus abondants ont été retenus et représentés sous forme de diagrammes à barres empilées, moyennés par groupe écologique.

### Diversité $\alpha$ (Alpha)

Deux indices de diversité intra-échantillon ont été calculés pour chaque parcelle à partir des tables d'OTU raréfiées :

- **Chao1** : l'indice Chao1 est un estimateur de la richesse spécifique (nombre d'espèces totale), qui corrige pour les biais liés aux espèces qui pourraient être présentes mais non détectées dans l'échantillon en raison de leur faible abondance :  
 $Chao1 = S_{obs} + (F_1^2) / (2 \times F_2)$  avec  $S_{obs}$  = nombre d'espèces observées ;  $F_1$  = nombre de 'singletons' (espèces observées une seule fois) ;  $F_2$  = nombre de 'doubletons' (espèces observées deux fois). (Baldrian et al., 2024)
- **Shannon** : un indice combinant richesse et équitabilité (abondance relative des OTUs) :  
 $H' = -\sum (p_i \times \ln(p_i))$  avec  $H'$  = indice de Shannon ;  $p_i$  = proportion relative de l'espèce  $i$  =  $n_i / N$  ;  $n_i$  = abondance de l'espèce  $i$  ;  $N$  = somme des abondances de toutes les espèces.

Les résultats ont été visualisés par des boxplots groupés par combinaison "essence-horizon" (soit 4 groupes : *Hêtre - Organique*, *Hêtre - Minéral*, *Épicéa - Organique*, *Épicéa - Minéral*). Les indices de diversité  $\alpha$  ont été calculés à l'aide du package R '*vegan*' (Oksanen et al., 2025). L'indice de Shannon a été obtenu via la fonction '*diversity*', tandis que l'estimateur de richesse Chao1 a été extrait avec '*estimateR*', après transformation des données en compte d'abondance par taxon

## **Résilience fonctionnelle (Shannon)**

La résilience des communautés bactériennes a été estimée par un indice basé sur la somme des diversités de Shannon calculées au sein des principaux phyla (bactéries), groupes trophiques (champignons) ou classes (archées) dominants dans chaque communauté, à partir des données raréfiées. La diversité de Shannon a été calculée indépendamment pour chaque phylum et la résilience a été définie comme la somme des indices de Shannon obtenus pour chacun des 10 phyla/groupes trophiques/classes les plus abondants. L'indice de diversité de Shannon a été calculé à l'aide de la fonction '*diversity*' du package '*vegan*' (Oksanen et al., 2025).

Cette approche, inspirée des travaux de Shade et Allison & Martiny (2012)(2008), suppose qu'une communauté dont la richesse taxonomique est élevée au sein des phyla et/ou des groupes trophiques possède une meilleure capacité de résistance et de récupération face aux perturbations. La communauté est d'autant plus résiliente que la richesse taxonomique observée est élevée, et que leurs abondances relatives sont similaires (bonne équitabilité). Les résultats ont été comparés entre groupes et visualisés via des boxplot.

## **Redondance fonctionnelle**

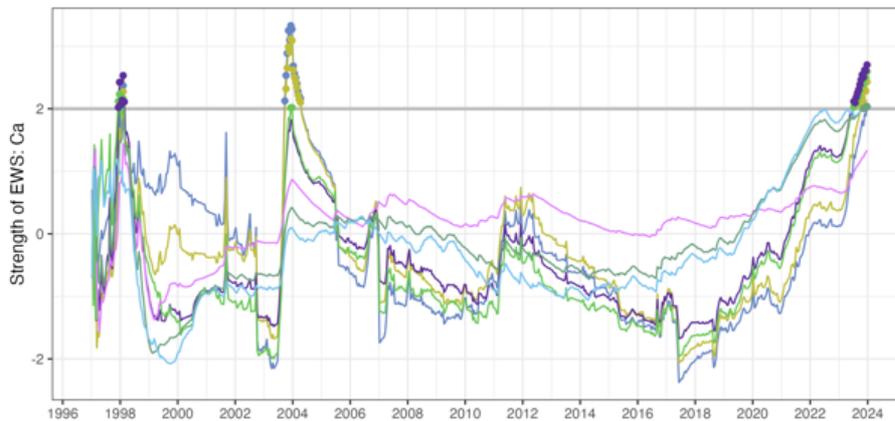
La redondance fonctionnelle a été estimée à l'aide de l'indice de Chao1 calculé par phylum (bactéries), groupe trophique (champignons), classe (archées). La redondance totale par échantillon a été obtenue en sommant les Chao1 de chacun des 10 phyla/groupes trophiques/classes majeurs (fonction '*estimateR*' du package '*vegan*'). Les contributions moyennes de chaque phylum à la redondance ont été comparées entre groupes via un barplot empilé, représentant la distribution relative des valeurs de Chao1. Cette représentation permet d'évaluer visuellement les phyla majoritairement responsables de la redondance fonctionnelle dans chaque condition.

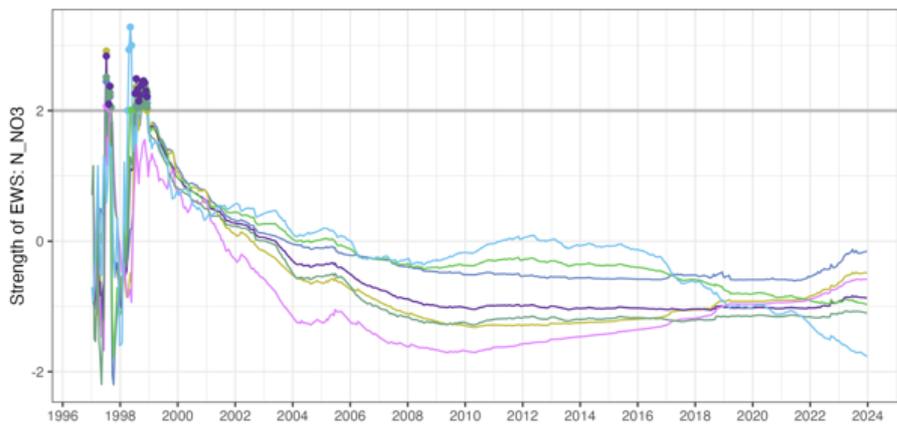
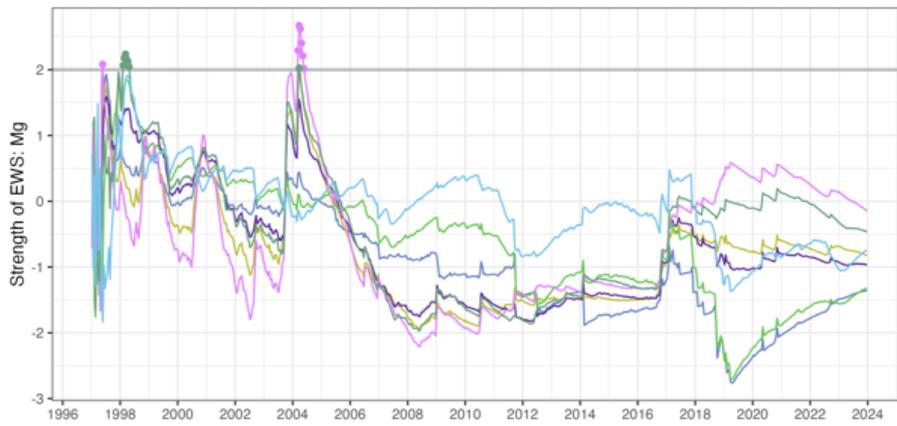
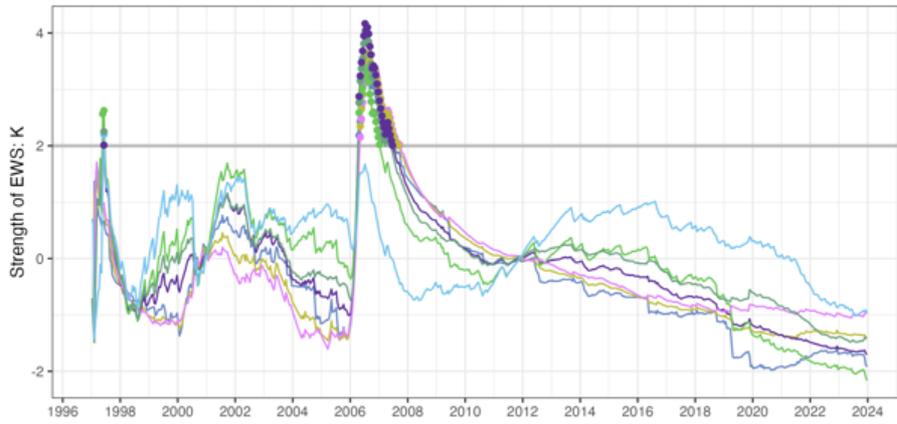
## B4. Résultats et discussion

### B4.1. Évaluation de l'évolution de la résilience de deux bassins versants forestiers

#### B4.1.1. Les signaux d'alerte précoce (Early Warning Signals) dans les concentrations en éléments à l'exutoire

##### La Robinette





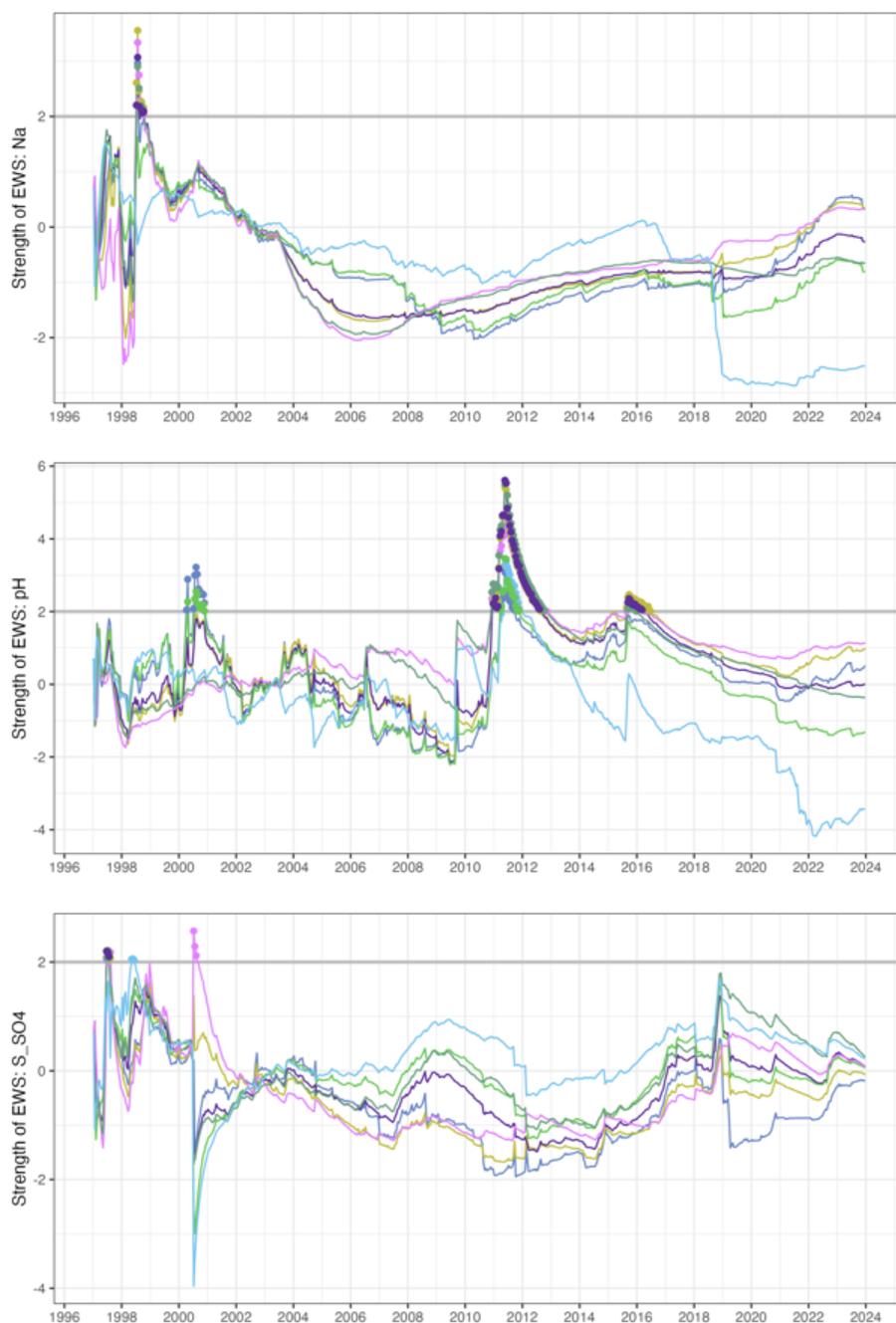


Figure 5. Évaluation des signaux d’alerte précoce (EWS) pour les éléments (Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, N-NO<sub>3</sub>, Na, pH et S-SO<sub>4</sub>) dans les eaux de l’exutoire de La Robinette, en utilisant cinq années de données pour “entraîner” les signaux avant l’analyse. Un signal d’alerte précoce est considéré comme présent si, à un moment donné, la valeur de l’indicateur dépasse sa moyenne glissante de deux écarts-types ou plus. Les indicateurs utilisés sont : l’écart-type (*sd*), l’autocorrélation *AR(1)* et l’asymétrie (*skew*), ainsi que les quatre combinaisons composites : *sd + skew*, *skew + AR(1)*, *AR(1) + sd*, *AR(1) + sd + skew*).

L’analyse des signaux d’alerte précoce (EWS ; Fig. 5) pour le **calcium** dans les eaux de l’exutoire du bassin versant de La Robinette met en évidence plusieurs périodes critiques (dépassements significatifs du seuil de deux écarts-types par rapport à leur moyenne mobile : autour de 1998–1999, 2004–2005, et 2023–2024), traduisant une augmentation de l’instabilité du système ou une persistance accrue d’anomalies dans les concentrations de calcium. Ces

déviations significatives reflètent des modifications du comportement du système, possiblement associées à :

- un ralentissement critique (*Critical Slowing Down*) du retour à l'état d'équilibre après une perturbation (ex. sécheresse, changements hydrologiques ou forestiers),
- une modification de l'origine ou du mode de mobilisation du calcium, par exemple via des processus de lessivage, de décomposition de matière organique ou de changements dans la gestion forestière,
- une altération progressive de la résilience du sol ou du couvert végétal, susceptible de modifier la disponibilité en calcium dans les flux hydriques.

Le fait que des signaux composites (et non isolés) soient à l'origine de ces alertes confère une robustesse supplémentaire à ces observations (Clements and Ozgul, 2018). En effet, la concordance de plusieurs indicateurs – comme l'augmentation simultanée de la variance (sd) et de l'autocorrélation (AR(1)) – renforce l'hypothèse d'un changement structurel dans la dynamique du système.

Pour le **potassium** : on observe un signal EWS très marqué entre 2006 et 2008 (Fig. 5), période durant laquelle plusieurs indicateurs dépassent nettement le seuil de deux écarts-types. Cette phase correspond à une hausse transitoire des indicateurs d'instabilité statistique, suivie d'une décroissance progressive et prolongée jusqu'à 2024. Cette trajectoire suggère un événement de rupture dans la dynamique du potassium, suivi d'un retour lent vers une stabilité apparente du système.

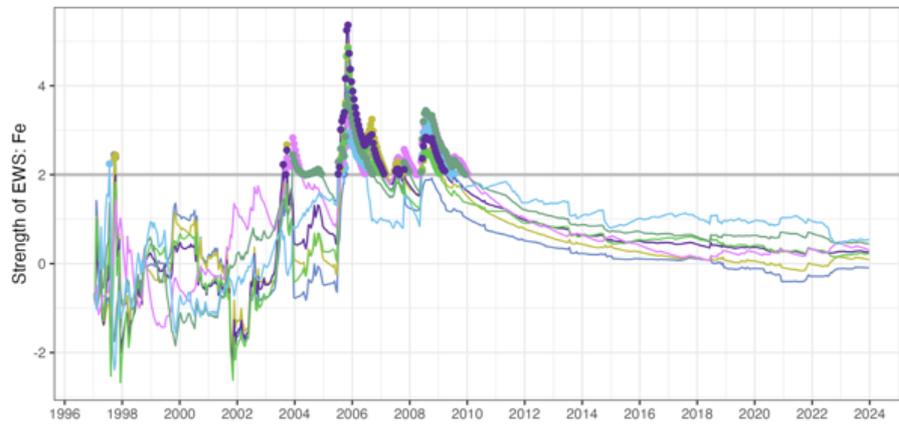
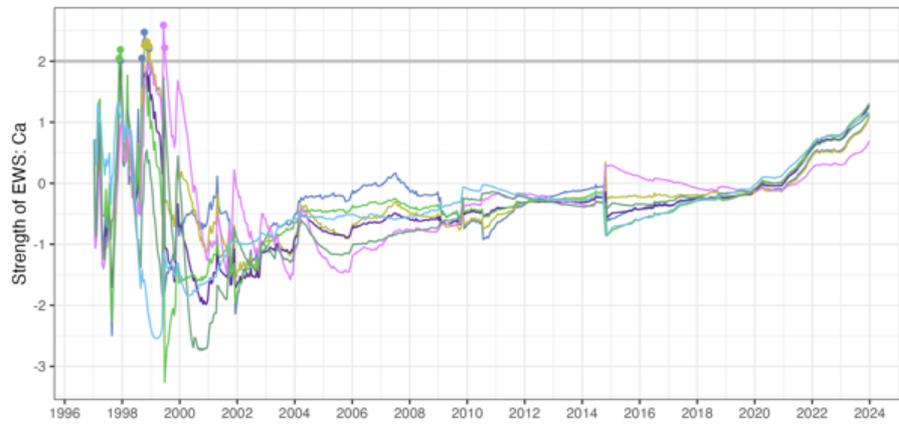
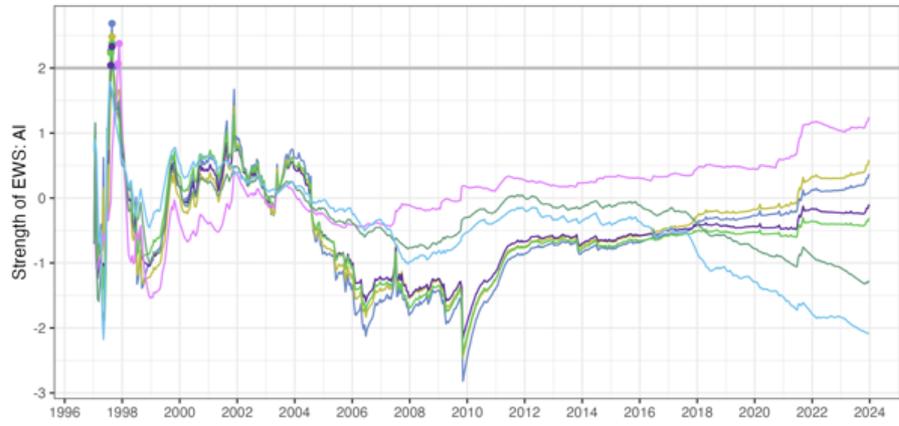
Pour le **magnésium** : les signaux EWS (Fig. 5) apparaissent plus diffus que pour le potassium, mais deux périodes se distinguent : la première, autour de 1997–1999, présente quelques hausses ponctuelles des indicateurs ; la seconde, entre 2004 et 2005, montre une élévation modérée, sans toutefois atteindre l'intensité observée pour le potassium. À partir de 2005, on observe une diminution progressive et durable des indicateurs, maintenus sous le seuil critique, ce qui pourrait traduire une stabilisation du système concernant le magnésium. Bien que des perturbations aient pu exister, la mobilité du magnésium semble moins affectée, probablement en raison de sa fixation plus importante dans le sol comparée au K.

Le **pH** : entre 2011 et 2013, les indicateurs EWS appliqués au pH (Fig. 5) révèlent une phase de forte instabilité, marquée par une augmentation simultanée et soutenue de tous les EWS, atteignant des valeurs supérieures à quatre écarts-types au-dessus de la moyenne mobile. Une élévation plus modérée est également observée en 2016. L'analyse croisée des signaux d'alerte précoce (EWS) et des tendances du pH à l'exutoire du bassin versant de La Robinette, met en évidence une convergence temporelle marquée entre instabilités détectées et changements mesurés. En particulier, la période 2011–2013 présente une forte intensité de signaux EWS coïncidant avec des changements abrupts (augmentation puis diminution) et statistiquement « quasi certain (99-100%) » du pH identifié par le modèle BEAST. De même, une augmentation progressive des indicateurs EWS à partir de 2020 précède une diminution du pH entre 2021 et 2022, confirmée par la tendance lissée (Bosman and Carnol, 2024).

Les signaux d’alerte précoce (EWS) appliqués aux concentrations en **sulfates** (Fig. 5) à l’exutoire de La Robinette révèlent des fluctuations modérées, réparties sur l’ensemble de la période étudiée. Une légère élévation des indicateurs est observable au début des années 2000, sans toutefois atteindre le seuil critique.

Les signaux d’alerte précoce (EWS) associés à l’**aluminium** et au **fer** à La Robinette (Fig. 5) révèlent des dynamiques étroitement liées, en particulier entre 1998 et 2003. Cette période est marquée par des hausses significatives et synchrones des indicateurs composites pour les deux éléments, dépassant le seuil de 2 écarts-types. Ces signaux suggèrent un changement transitoire dans la mobilité de ces métaux, probablement induit par une modification des conditions redox et hydriques du sol à la suite de perturbations forestières majeures (coupes rases de 1996). Les signaux d’alerte liés au fer montrent une augmentation modérée des indicateurs autour de 2009. La tendance des concentrations en fer (Bosman and Carnol, 2024) montre une rupture nette en 2009, marquée par une diminution brutale et significative des concentrations (probabilité de changement > 99 %). Ce changement pourrait refléter soit une amélioration des conditions d’aération des sols limitant la solubilité du fer ou une augmentation de la rétention du fer dans les sols via des processus d’adsorption ou de précipitation.

# Waroneu





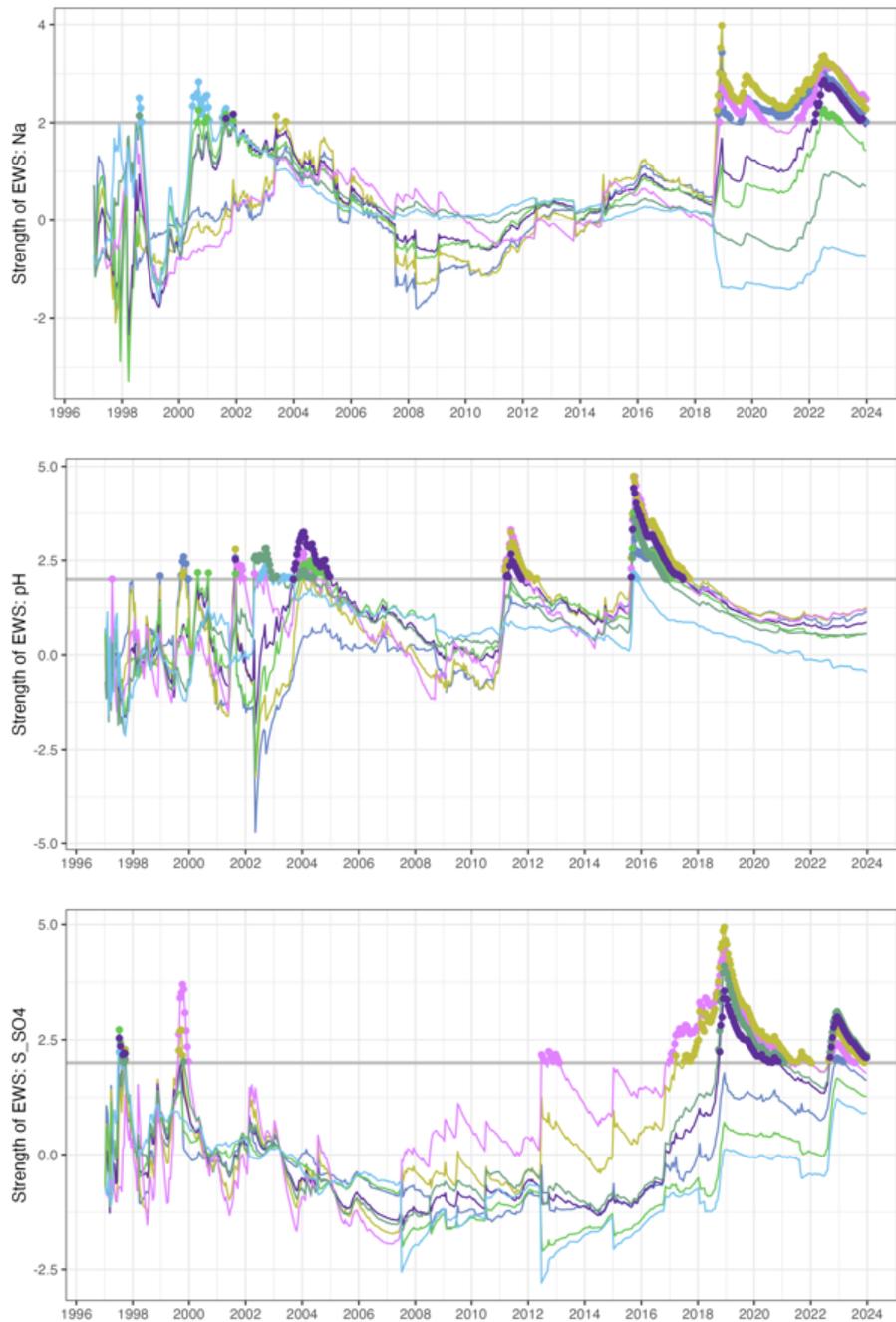


Figure 6. Évaluation des signaux d'alerte précoce (EWS) pour les éléments (Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, N-NO<sub>3</sub>, Na, pH et S-SO<sub>4</sub>) dans les eaux de l'exutoire de Waroneu, en utilisant cinq années de données pour "entraîner" les signaux avant l'analyse. Un signal d'alerte précoce est considéré comme présent si, à un moment donné, la valeur de l'indicateur dépasse sa moyenne glissante de deux écarts-types ou plus. Les indicateurs utilisés sont : l'écart-type (*sd*), l'autocorrélation AR(1) et l'asymétrie (*skew*), ainsi que les quatre combinaisons composites : *sd + skew*, *skew + AR(1)*, *AR(1) + sd*, *AR(1) + sd + skew*).

L'analyse des signaux d'alerte précoce (EWS) pour le **calcium** (Fig. 6) à l'exutoire du bassin versant de Waroneu met en évidence une phase d'instabilité marquée entre 1996 et 2000. Durant cette période, plusieurs indicateurs statistiques (variance, autocorrélation AR(1), asymétrie) franchissent le seuil de +2 écarts-types, indiquant un affaiblissement temporaire de

la résilience du système biogéochimique. Ce signal coïncide avec la phase post-amendement en dolomie (1992), qui a pu entraîner une remobilisation des cations basiques dans les eaux de drainage. Entre 2000 et 2017, les courbes des indicateurs se stabilisent autour de la moyenne mobile, sans dépassement significatif du seuil. À partir de 2020, plusieurs indicateurs présentent une tendance à la hausse, sans toutefois franchir le seuil de +2 écarts-types.

Pour le **potassium** : entre 1996 et 1998, plusieurs indicateurs (Fig. 6) dépassent le seuil de +2 écarts-types, signalant une phase critique de perte de résilience du système. Cette période constitue la séquence d'alerte la plus marquée pour le potassium.

Entre 2004 et 2006, pour le **magnésium** (Fig. 6), plusieurs indicateurs de signaux d'alerte précoce (EWS) franchissent nettement le seuil de +2 écarts-types, suggérant une instabilité transitoire dans la dynamique du magnésium. Cette période correspond potentiellement à la phase de mobilisation accrue consécutive à l'amendement de 1992, avec un relargage différé ou progressif du magnésium dans le système hydrique. À partir de 2007, les concentrations en Mg à l'exutoire montrent une rupture nette (Bosman and Carnol, 2024) (identifiée comme « quasi certaine » par l'analyse BEAST), traduisant une diminution brutale des concentrations.

**Sodium** : entre 1998 et 2004, plusieurs indicateurs franchissent ponctuellement le seuil de +2 écarts-types (Fig. 6), indiquant des signaux EWS modérés. De 2005 à 2017, les courbes restent proches de la moyenne sans franchissement net. À partir de 2018, une intensification marquée des EWS est observée, avec plusieurs indicateurs atteignant des valeurs supérieures à +3. Cette phase, persistante jusqu'en 2023, pourrait refléter des changements dans la dynamique de circulation de l'eau dans le bassin, notamment en lien avec les zones de nappe perchée ou une modification du fonctionnement hydromorphologique des sols superficiels.

**pH** : trois séquences de signaux d'alerte sont identifiables : une première entre 2000 et 2005 (Fig. 6), où la majorité des indicateurs dépassent le seuil de +2 ; une seconde entre 2011 et 2013, et une troisième entre 2015 et 2018. Ces signaux successifs suggèrent des épisodes répétés de déséquilibre du régime acido-basique du sol, probablement liés à des ajustements internes du système (minéralisation, redistribution des charges acides ou modification des flux verticaux), en contexte de perturbation forestière cumulative et de pressions climatiques croissantes.

**Sulfates** : les signaux d'alerte précoce (EWS) associés aux concentrations en sulfates restent relativement faibles jusqu'en 2016 (Fig. 6). À partir de 2017, une phase critique s'enclenche, caractérisée par une forte intensification des signaux, certains indicateurs dépassant +5 écarts-types — soit les valeurs les plus élevées observées parmi l'ensemble des éléments analysés. Une seconde séquence de signaux débute en 2022, suggérant une nouvelle instabilité. Cette dynamique pourrait refléter une remobilisation tardive du soufre issus des dépôts atmosphériques (Novák et al., 2000), induite par des fluctuations hydriques importantes.

## Mise en contexte des EWS en fonction de la gestion forestière et du climat pour les deux bassins versants

L'indice SPEI (Standardized Precipitation-Evapotranspiration Index) représente l'écart entre le bilan climatique actuel (précipitations moins évapotranspiration potentielle) et le bilan à long terme, exprimé sous forme standardisée (moyenne nulle et écart-type unitaire). Il est utilisé pour suivre les sécheresses sur différentes échelles de temps, chaque échelle reflétant un bilan hydrique cumulé sur la période correspondante (Potop et al., 2014).

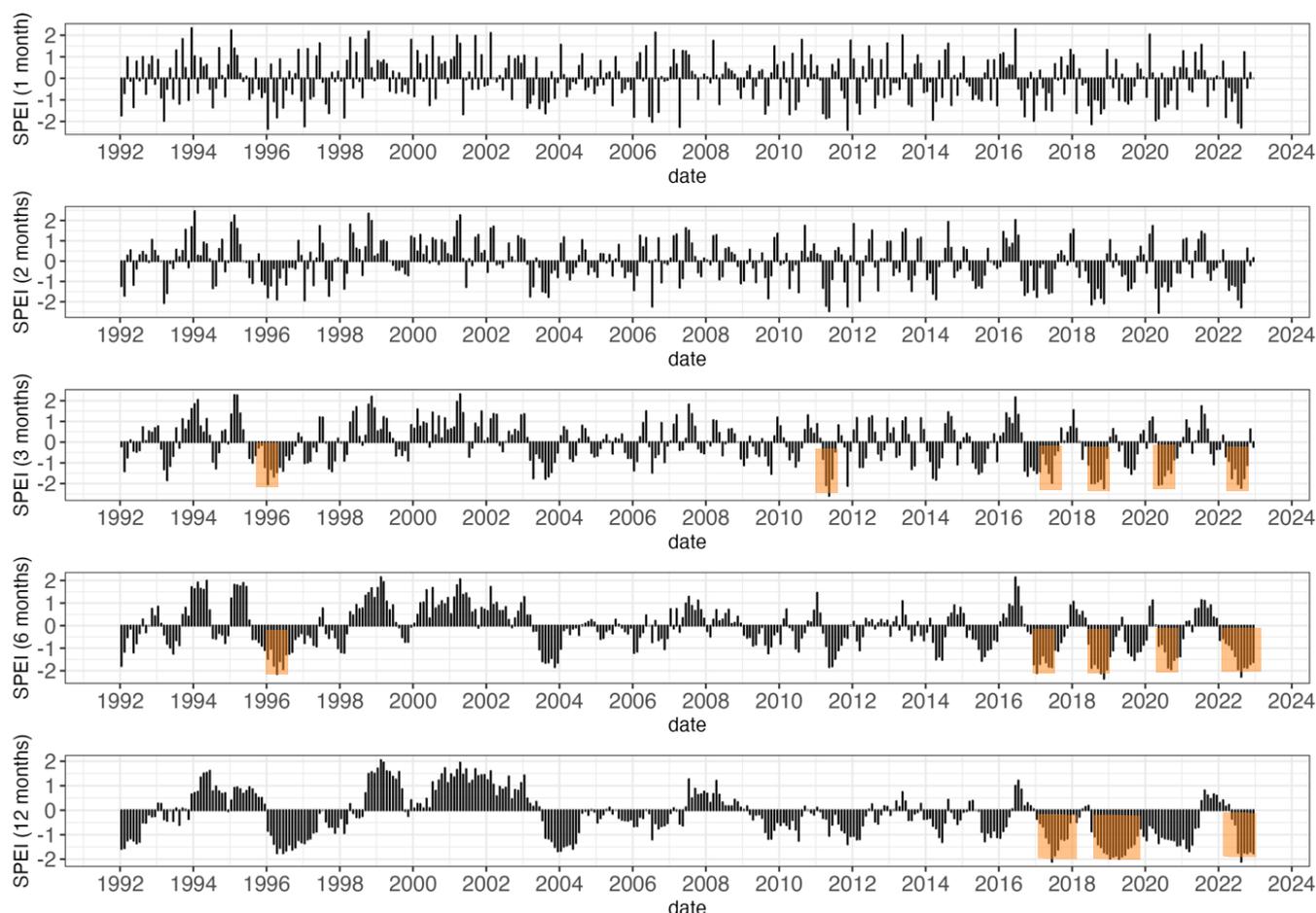


Figure 7. Indice mensuel standardisé de précipitation-évapotranspiration (SPEI) de 1992 à 2022, pour la localisation des exutoires des deux bassins versants, extrait de la base de données SPEIbase v.2.9. Cinq échelles de temps différentes sont représentées : 1 mois (en haut), 2 mois, 3 mois, 6 mois et 12 mois (en bas), illustrant la durée des périodes de sécheresse (en orange les sécheresses très sévères).

Une valeur de SPEI nulle indique une situation normale. Les valeurs positives signalent des conditions plus humides que la normale, tandis que les valeurs négatives reflètent des conditions plus sèches (Tableau 5). L'échelle temporelle est essentielle, car le délai entre l'arrivée des précipitations et la disponibilité effective de l'eau varie selon les ressources concernées (Tableau 4). Ainsi, le SPEI permet de différencier fonctionnellement les types de sécheresses.

Échelle SPEI	Type de sécheresse	Domaine affecté
1-3 mois	Agricole	Cultures, sols, pâturages
3-6 mois	Écologique / forestière	Forêts, végétation naturelle
6-12 mois	Hydrologique	Rivières, nappes, réservoirs
>12 mois	Socio-économique / globale	Activités humaines, énergie

Tableau 4 : Échelle temporelle des SPEI et types de sécheresses correspondantes.

SPEI	Catégorie
$\geq 2$	Très humide
1.5 à 1.99	Humide modéré
1.0 à 1.49	Humide faible
-0.99 à 0.99	Normal
-1.0 à -1.49	Sécheresse faible
-1.5 à -1.99	Sécheresse modérée à sévère
$\leq -2.0$	Sécheresse très sévère

Tableau 5 : Classification usuelle des valeurs de l'indice SPEI (Standardized Precipitation-Evapotranspiration Index).

Les séries des SPEI (Fig. 7) illustrent l'évolution du bilan hydrique sur cinq échelles temporelles. On observe une augmentation nette de la fréquence et de l'intensité des épisodes de sécheresse à partir de 2014, particulièrement marquée aux échelles de 6 et 12 mois. Les années 2018, 2020 et 2022 apparaissent comme des périodes critiques de sécheresse prolongée, dépassant souvent le seuil de -2. Cette tendance souligne une pression climatique croissante sur les écosystèmes forestiers.

L'analyse des signaux d'alerte précoce (EWS) appliquée aux concentrations en éléments chimiques dans les eaux des exutoires des bassins versants forestiers de La Robinette et de Waroneu met en évidence une dynamique écosystémique fortement influencée par les perturbations forestières et les conditions climatiques. En combinant l'analyse temporelle des indicateurs EWS (variance, autocorrélation, asymétrie) avec les données climatiques issues de l'indice SPEI (Standardized Precipitation-Evapotranspiration Index), il est possible d'identifier plusieurs périodes critiques au cours des trois dernières décennies.

### La Robinette

Perturbations forestières majeures et réponses biogéochimiques : Les chablis en 1995 et une coupe à blanc de 22 hectares en 1996 ont profondément modifié la structure forestière du bassin (réduction de plus de 75 % de la surface d'épicéas matures). Ce bouleversement a été suivi d'une replantation hétérogène à partir de 1998 (essences feuillues, zones de gagnage, régénération naturelle d'épicéas). Cette phase de transition forestière a coïncidé avec une

réorganisation marquée des cycles biogéochimiques, comme en témoignent les signaux EWS détectés sur les concentrations de calcium, potassium et magnésium à l'exutoire, dont l'intensité maximale est atteinte entre 2003 et 2008. Ces signaux traduisent probablement une augmentation de la lixiviation des cations basiques consécutive à la perte de couverture végétale, à la minéralisation accrue de la matière organique et à la diminution temporaire de l'absorption racinaire.

Transitions hydriques et instabilités du pH à La Robinette : les signaux EWS appliqués au pH de l'exutoire de La Robinette révèlent deux épisodes majeurs d'instabilité : entre 2011–2013 et en 2016. Ces phases coïncident avec des ruptures significatives dans les tendances de long terme (BEAST), marquant un arrêt de l'augmentation progressive du pH, suivi d'une phase de stabilisation, voire de légère acidification (Bosman and Carnol, 2024). Ces épisodes se situent après une décennie d'augmentation continue du pH, et pourraient refléter un point de bascule dans la capacité tampon du système. Les successions de sécheresses modérées à sévères identifiées par le SPEI entre 2010 et 2016 suggèrent un rôle possible des stress hydriques répétés, susceptibles d'avoir modifié l'activité microbienne, la dynamique des litières ou la minéralisation des sulfates, contribuant ainsi à des perturbations acides ponctuelles dans les eaux de l'exutoire.

Sécheresses récentes et signaux de perte de résilience à La Robinette : depuis 2014, les indices SPEI indiquent une fréquence croissante de sécheresses modérées à sévères, avec des épisodes particulièrement marqués en 2018, 2020 et 2022. Ces perturbations climatiques coïncident avec une réapparition de signaux d'alerte précoce (EWS) pour plusieurs paramètres hydrogéochimiques, notamment le calcium, le potassium et le pH, suggérant un affaiblissement progressif de la résilience du système. Malgré une période apparente de stabilisation après 2010, la récurrence des stress hydriques pourrait avoir déstabilisé l'équilibre biogéochimique, en perturbant les flux entre compartiments organique, minéral et hydrique. Cette reprise des EWS peut refléter une tension croissante entre la demande biologique, les apports atmosphériques, et la disponibilité réelle dans les sols, accentuée par la diminution des réserves mobilisables.

## **Waroneu**

Effets de l'amendement et premiers signaux de perturbation à Waroneu : l'analyse des signaux d'alerte précoce (EWS) met en évidence plusieurs phases de réactivité du système suite à l'amendement calcaro-magnésien (dolomie et sulfate de potassium) appliqué en 1992. La première phase, s'étendant de 1996 à 2004, est caractérisée par des augmentations significatives des EWS pour le calcium, le potassium, le magnésium et les nitrates, traduisant une perturbation de l'équilibre biogéochimique du sol et des eaux.

Les réponses des éléments apparaissent différenciées dans le temps : les signaux liés au calcium et au potassium sont détectés dès 1996–2000, tandis que ceux du magnésium se manifestent plus tardivement, entre 2002 et 2004. Cette dynamique suggère des comportements contrastés : la forte mobilité du potassium et sa disponibilité immédiate entraînent une réponse rapide, tandis que le magnésium, souvent associé à des processus de libération secondaire

(désorption ou dissolution progressive), présente une réponse plus amortie et décalée. Les nitrates présentent également des signaux d'instabilité marqués jusqu'en 2001, probablement en lien avec une stimulation temporaire de la minéralisation azotée ou une perturbation du cycle de l'azote liée à la modification du pH.

Stabilisation, puis réémergence des signaux EWS : après la phase de réajustement post-amendement (1996–2004), une période de relative stabilité s'observe entre 2005 et 2015. Durant cette phase, les EWS sont atténués pour l'ensemble des éléments, les indicateurs restent proches de la moyenne, et la dispersion inter-métriques est faible. Cette stabilité coïncide avec un couvert forestier peu perturbé (peuplements résineux et feuillus matures) et une absence de sécheresse marquée, comme l'indiquent les indices SPEI sur 6 à 12 mois.

À partir de 2010, une reconfiguration progressive du couvert forestier débute, avec la perte croissante des épicéas (chablis, coupes, puis crises sanitaires). Entre 2017 et 2023, ces perturbations atteignent un maximum, avec la disparition complète des résineux. Dans ce contexte, les EWS réapparaissent pour plusieurs paramètres, en particulier le pH, les sulfates, le sodium, et à nouveau le calcium. Le pH présente deux périodes d'instabilité (2011–2013 et 2015–2018), suggérant une altération du pouvoir tampon des sols, possiblement liée à la perte de couverture végétale, à une minéralisation accrue de la matière organique, ou à une restructuration des flux hydriques. Les signaux très marqués pour les sulfates (EWS > +5 entre 2016 et 2022) suggère une mobilisation du soufre, possiblement induite par des cycles répétés d'assèchement et de réhumidification du sol, qui favorisent la minéralisation de la matière organique et la libération de sulfates. Le EWS du sodium montre une augmentation soutenue après 2018, pouvant refléter des modifications de la circulation de l'eau dans les zones hydromorphes ou mal drainées du bassin.

Ces évolutions se produisent dans un contexte de sécheresses récurrentes à partir de 2014, susceptibles d'avoir amplifié les déséquilibres biogéochimiques par réduction de l'absorption racinaire, stimulation de la minéralisation ou altération des flux d'eau. Les réponses différenciées entre éléments suggèrent une interaction entre conditions climatiques, changements de couvert forestier et contrastes pédologiques. Les sols du tiers supérieur du bassin, hydromorphes et à fragipan (\*), pourraient réagir plus fortement aux stress que les sols bruns mieux drainés.

Au final, les signaux d'alerte détectés à Waroneu illustrent trois grandes phases : une réponse forte post-amendement (1996–2004), une stabilisation transitoire (2005–2015), puis une reprise des déséquilibres liée aux perturbations climatiques et forestières (2016–2023).

(\* : Un fragipan est un horizon pédologique compact, dense et peu perméable, généralement situé dans la partie subsuperficielle du sol). Il se caractérise par une forte cohésion en conditions sèches, une faible porosité, et une perméabilité très réduite, limitant à la fois le développement racinaire et l'infiltration de l'eau. En climat tempéré humide, il est fréquemment associé à la formation de nappes perchées saisonnières au-dessus de cet horizon. Le fragipan n'est pas cimenté de façon permanente (comme un duripan), mais il oppose une résistance mécanique importante à la pénétration. Dans le contexte des écosystèmes forestiers, la présence d'un fragipan peut influencer les dynamiques hydriques et biogéochimiques du sol, en induisant par exemple une saturation temporaire, une stagnation de l'eau ou des conditions anoxiques locales, avec des effets potentiels sur la mobilité des éléments, la croissance des racines et la résilience des peuplements forestiers.)

**Interprétation globale des résultats (signaux d’alerte précoce):** L’analyse des signaux d’alerte précoce (EWS) dans les deux bassins versants forestiers étudiés, La Robinette et Waroneu, a permis de valider la pertinence de ces indicateurs statistiques pour détecter des transitions biogéochimiques majeures. Dans les deux cas, les EWS ont coïncidé de manière cohérente avec des perturbations bien documentées : amendement, coupes rases et chablis, changements de couvert forestier. Ces observations, principalement concentrées entre le milieu des années 1990 et les années 2010, soulignent la sensibilité du système hydrogéochimique aux interventions anthropiques et confirment la robustesse des EWS comme outils de détection de déséquilibres.

Or, depuis le milieu des années 2010, une nouvelle génération de signaux d’alerte émerge dans les deux bassins, sans qu’ils puissent être directement rattachés à des événements de gestion forestière. Par contre, ces signaux apparaissent en parallèle d’une série de sécheresses récurrentes et marquées, bien documentées par les indices climatiques SPEI. Cette convergence spatio-temporelle soulève une hypothèse forte : **le climat devient désormais un facteur structurant des cycles biogéochimiques forestiers**, capable à lui seul d’altérer la stabilité des écosystèmes, même en l’absence de perturbations anthropiques récentes.

Cette évolution marque un tournant. Alors que les pressions forestières pouvaient autrefois être suivies, interprétées et, dans une certaine mesure, contrôlées, les pressions climatiques imposent une dynamique plus diffuse, plus systémique et moins réversible. Les signaux d’alerte récents, affectant des éléments clés comme le calcium, le pH ou les sulfates, doivent être considérés comme des manifestations précoces d’un changement de régime écologique à venir, ou déjà amorcé.

Ces résultats rappellent que les dynamiques biogéochimiques ne sont pas de simples variables environnementales, mais qu’elles conditionnent la fertilité des sols, la disponibilité des nutriments et la résilience fonctionnelle des écosystèmes forestiers. À ce titre, la protection des sols et de leur fonctionnement chimique devrait être intégrée comme un enjeu central des stratégies de gestion forestière, au même titre que la biodiversité ou le renouvellement des peuplements. Ainsi, les EWS ne sont pas uniquement des indicateurs rétrospectifs. Ils constituent des outils prospectifs puissants, capables d’anticiper les vulnérabilités à venir, de renforcer les capacités de surveillance des écosystèmes forestiers, et d’orienter la gestion vers une logique proactive d’adaptation au changement climatique, davantage axée sur la préservation du capital pédologique et du fonctionnement biogéochimique des sols.

## B4.2. Biodiversité des micro-organismes dans des sols forestiers sous hêtre et épicéa

### B4.2.1. Abondance relative des champignons, bactéries, et archées

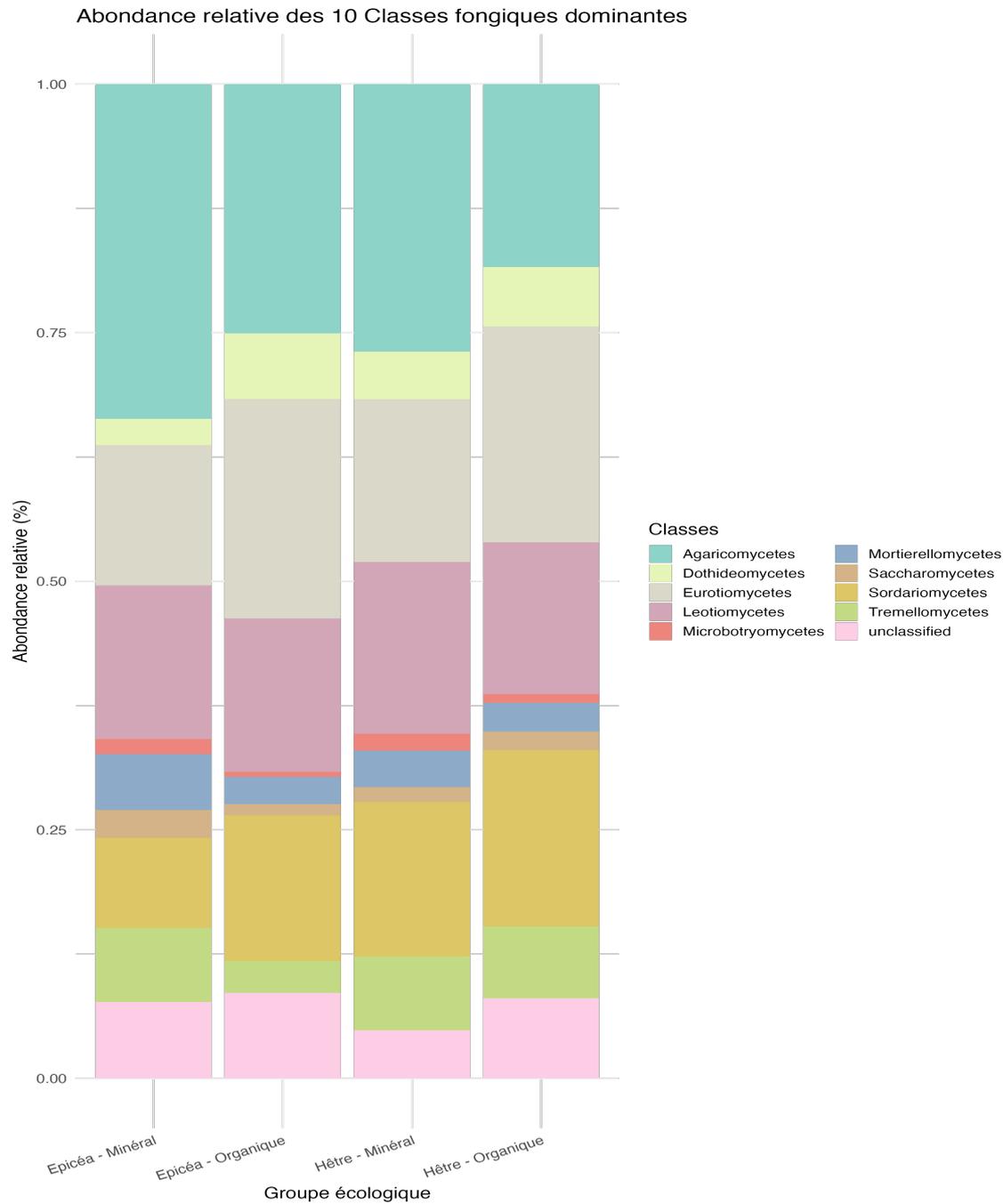


Figure 8 : Abondance relative des 10 classes fongiques dominantes dans les sols forestiers, calculée à partir des séquences raréfiées à une profondeur homogène. Les barres empilées représentent la proportion moyenne d'OTUs fongiques appartenant à chaque classe taxonomique majeure, au sein de quatre groupes écologiques définis par l'essence dominante (épicéa vs hêtre) et l'horizon du sol (organique vs minéral). Seules les 10 classes les plus abondantes ont été conservées pour faciliter la visualisation.

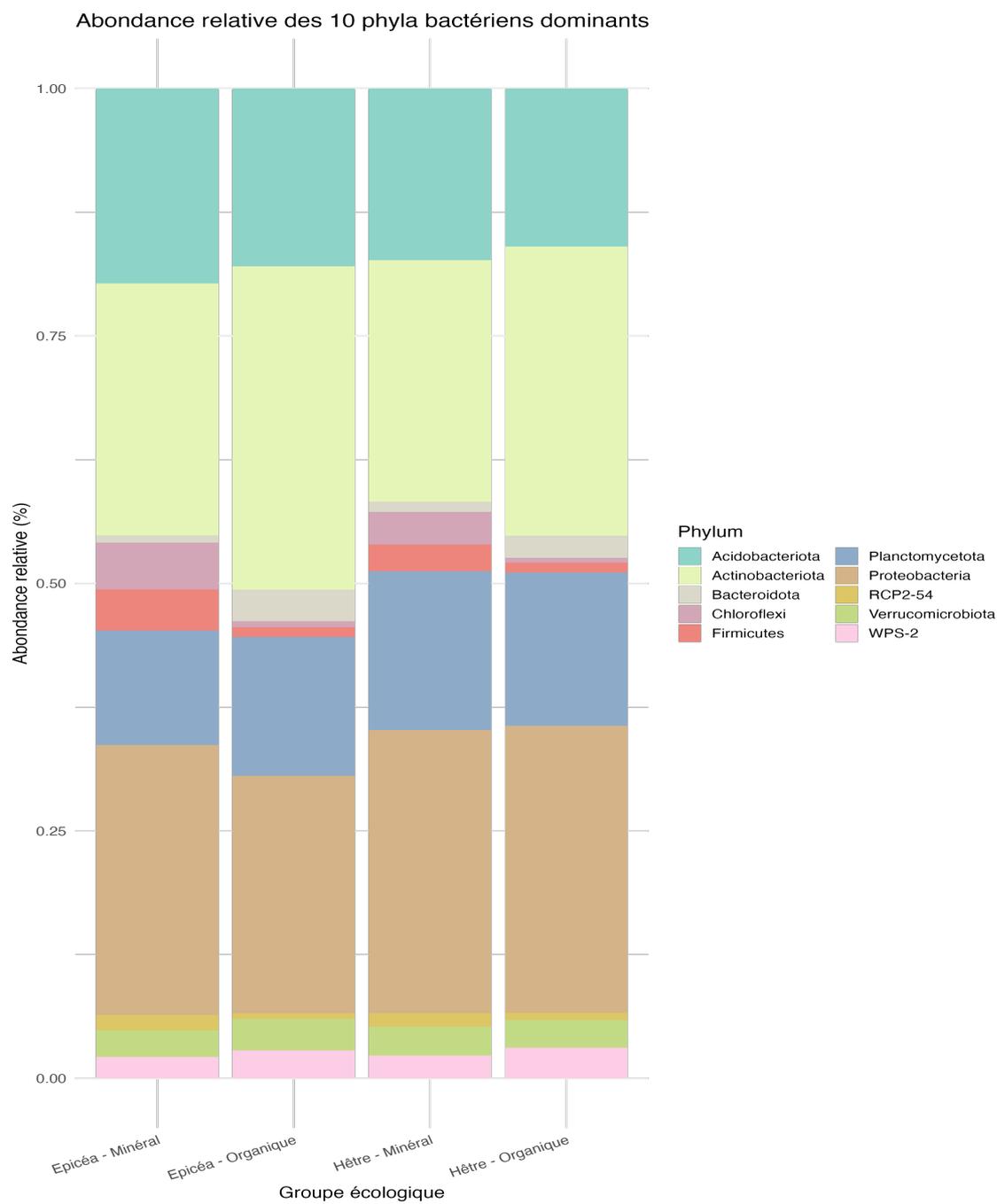


Figure 9 : Abondance relative des 10 phyla bactériens dominants dans les sols forestiers, calculée à partir des séquences raréfiées à une profondeur homogène. Les barres empilées représentent la proportion moyenne d'OTUs bactériens appartenant à chaque phylum taxonomique majeur, au sein de quatre groupes écologiques définis par l'essence dominante (épicéa vs hêtre) et l'horizon du sol (organique vs minéral). Seules les 10 phyla les plus abondantes ont été conservées pour faciliter la visualisation.

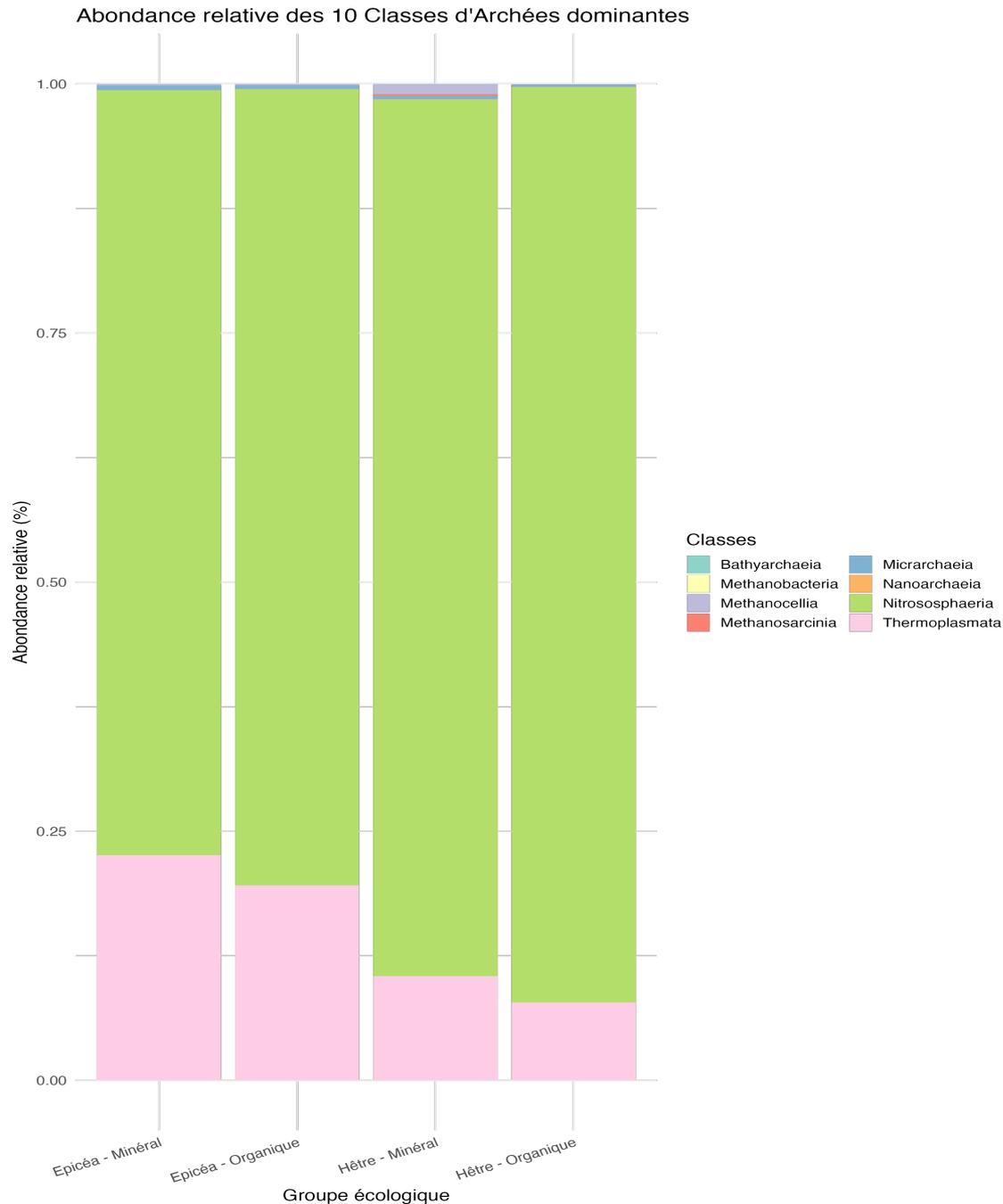


Figure 10 : Abondance relative des 8 classes d'archées dominantes dans les sols forestiers, calculée à partir des séquences raréfiées à une profondeur homogène. Les barres empilées représentent la proportion moyenne d'OTUs d'archées appartenant à chaque classe taxonomique, au sein de quatre groupes écologiques définis par l'essence dominante (épicéa vs hêtre) et l'horizon du sol (organique vs minéral).

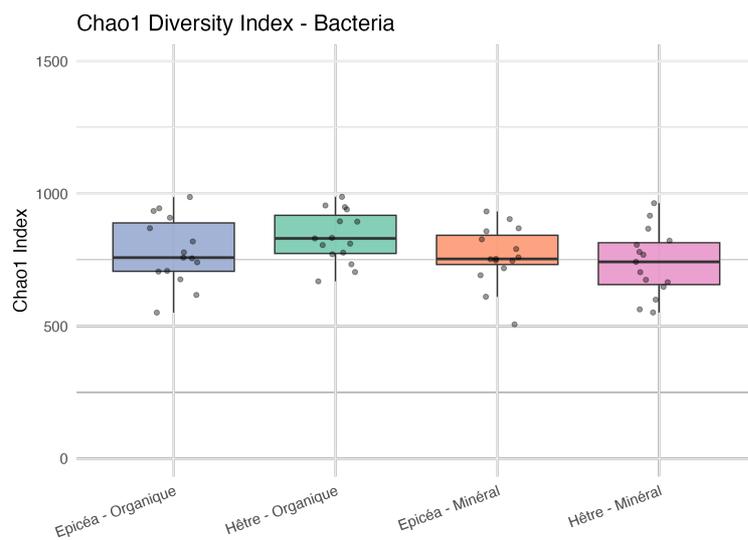
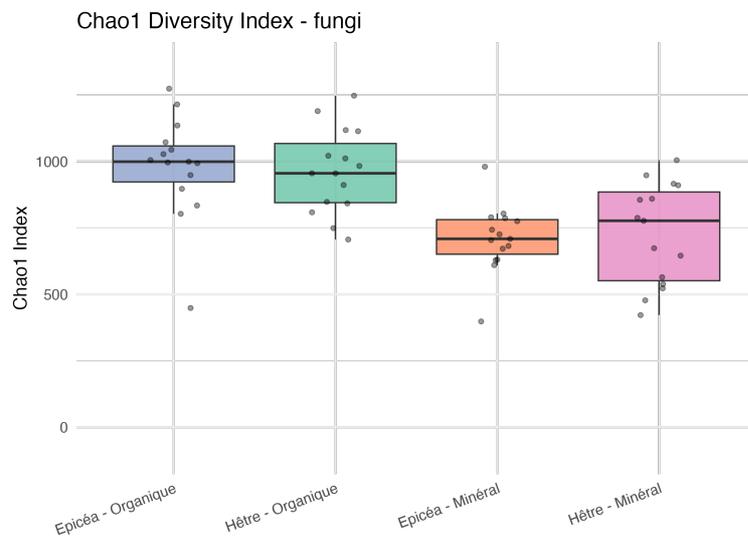
Pour les champignons, les séquences ont été groupées en 14340 OTU pour les quatre groupes écologiques confondus, appartenant à 12 phyla (Ascomycota, Basidiobolomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota, Entorrhizomycota, Glomeromycota, Kickxellomycota, Monoblepharomycota, Mortierellomycota, Mucoromycota, Olpidiomycota et Rozellomycota). Les classes fongiques dominantes sont les Agaricomycetes, Euritiomycetes, Leotiomycetes et Sordariomycetes (Fig. 8). L'abondance relative des Euritiomycetes, Dothideomycetes est plus

grande dans l'horizon organique, celle des Agaricomycetes et Microbotriomycetes plus faible. Notons une plus faible abondance relative des Tremellomycetes dans l'horizon organique sous épicea.

Pour les bactéries, les séquences ont été classés en 12829 OTUs pour les quatre groupes écologiques confondus, appartenant à 33 phyla. La proportion des 10 phyla majoritaires est illustré dans la Fig. 9. A travers les deux espèces et horizons, les Actinobacteria et Proteobacteria étaient les phyla les plus abondants, suivi des Planctomycota et des Acidobacteriota. Dans les horizons organiques, on observe une plus grande abondance relative des Actinobacteriota et Bacteroidota, ainsi qu'un plus faible abondance relative des Firmicutes et Chloroflexi, comparé aux horizons minéraux, quel que soit l'essence.

Concernant les archées (Fig. 10), les séquences ont été groupées en 2845 OTUs pour les quatre groupes écologiques confondus, appartenant à 6 phyla. La classe des Nitrosphaeria est largement dominante (>75%), suivi de celle des Thermoplasmata.

## B4.2.2. Diversité microbienne estimée par l'indice de Chao1



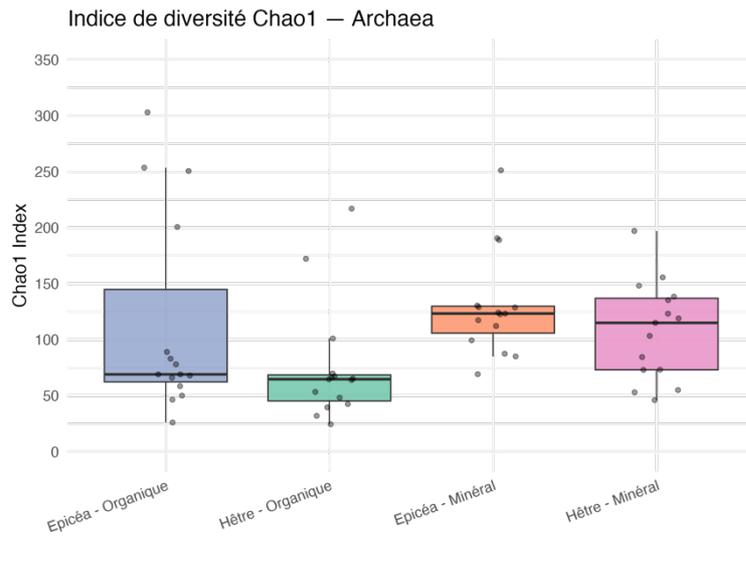


Figure 11 : Indice de diversité Chao1 (estimation de la richesse totale) des communautés de champignons, de bactéries et d'archées selon les conditions écologiques des sols forestiers (horizons organique et minéral sous épicéa ou hêtre). Les boîtes représentent la distribution de l'indice de diversité. Chaque point correspond à un échantillon individuel. La ligne horizontale représente la médiane, les limites des boîtes les 1er et 3e quartiles, et les moustaches les valeurs extrêmes sans les valeurs aberrantes.

La diversité  $\alpha$  (indice de Chao1), c'est le nombre total d'espèces (ici OTU) dans un échantillon, est estimée à 845, 784 et 107 pour les champignons, les bactéries et les archées, respectivement, toutes profondeurs d'horizon et essences d'arbres confondues. Les analyses statistiques révèlent des différences significatives entre les trois groupes microbiens étudiés (champignons, bactéries, archées) selon les types de sol et les horizons (Tableaux 6-8).

Les **champignons** ont la richesse la plus élevée, observée dans l'ensemble des conditions, avec des valeurs de Chao1 significativement plus élevées dans les horizons organiques que dans les horizons minéraux, et ce indépendamment de l'essence forestière (Tableau 6). Cette tendance s'explique probablement par la plus grande disponibilité en substrats organiques dans les couches superficielles du sol, propices à la diversité fongique. Le rôle majeur des champignons dans la dégradation de la matière organique et la structuration du sol (ex. : mycélium) soutient cette observation.

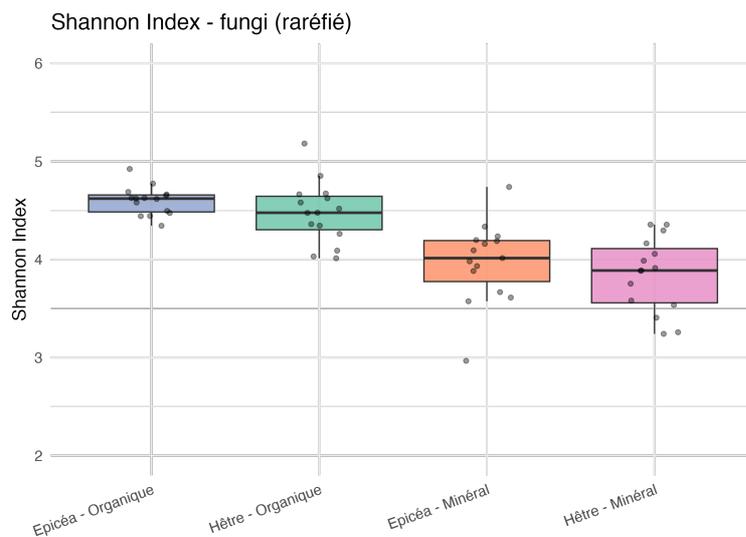
Les **bactéries** présentent également une richesse importante, relativement homogène, sans différence significative entre les horizons ou les essences (Tableau 7). Cela pourrait s'expliquer par la grande diversité métabolique des bactéries, qui leur permet de coloniser une large gamme de conditions environnementales. Ainsi, même si les conditions trophiques locales varient, le nombre total d'espèces (la richesse) reste relativement stable, tandis que la composition des communautés bactériennes, elle, peut être influencée par la nature des ressources disponibles, comme celles issues de la litière.

Les **archées** présentent une richesse plus faible que les champignons et les bactéries. L'horizon organique sous hêtre se démarque par une richesse significativement plus faible

(Tableau 8). L'horizon organique sous épicéa se caractérise par une forte variabilité. La plus grande richesse spécifique des archées observée dans les horizons minéraux, plus pauvres en éléments nutritifs et en matière organique, est cohérente avec leur mode de vie : ces micro-organismes sont bien adaptés aux conditions oligotrophes et, pour certains, ne dépendent pas directement de la matière organique pour leur métabolisme.

#### B4.2.3. Diversité microbienne estimée par l'indice de Shannon

L'indice de diversité de Shannon ( $H'$ ) est couramment utilisé pour évaluer la diversité  $\alpha$  des communautés microbiennes du sol, en intégrant à la fois la richesse spécifique (nombre d'OTUs) et l'équitabilité des abondances (les occurrences des différents OTUs dans un échantillon). Dans le cadre de cette étude, les valeurs de  $H'$  ont été calculées pour les communautés fongiques, bactériennes et des archées à partir de sous-échantillons normalisés, permettant ainsi une comparaison fiable entre les trois groupes taxonomiques. Un indice de Shannon élevé reflète une diversité importante au sein de l'échantillon. Cela signifie qu'il y a un grand nombre d'OTUs, répartis de manière relativement équilibrée, sans qu'un OTU ne domine largement les autres. À l'inverse, un indice de Shannon faible indique une diversité réduite, soit parce que le nombre d'OTUs est faible, soit parce qu'un seul OTU est très abondant tandis que les autres sont rares.



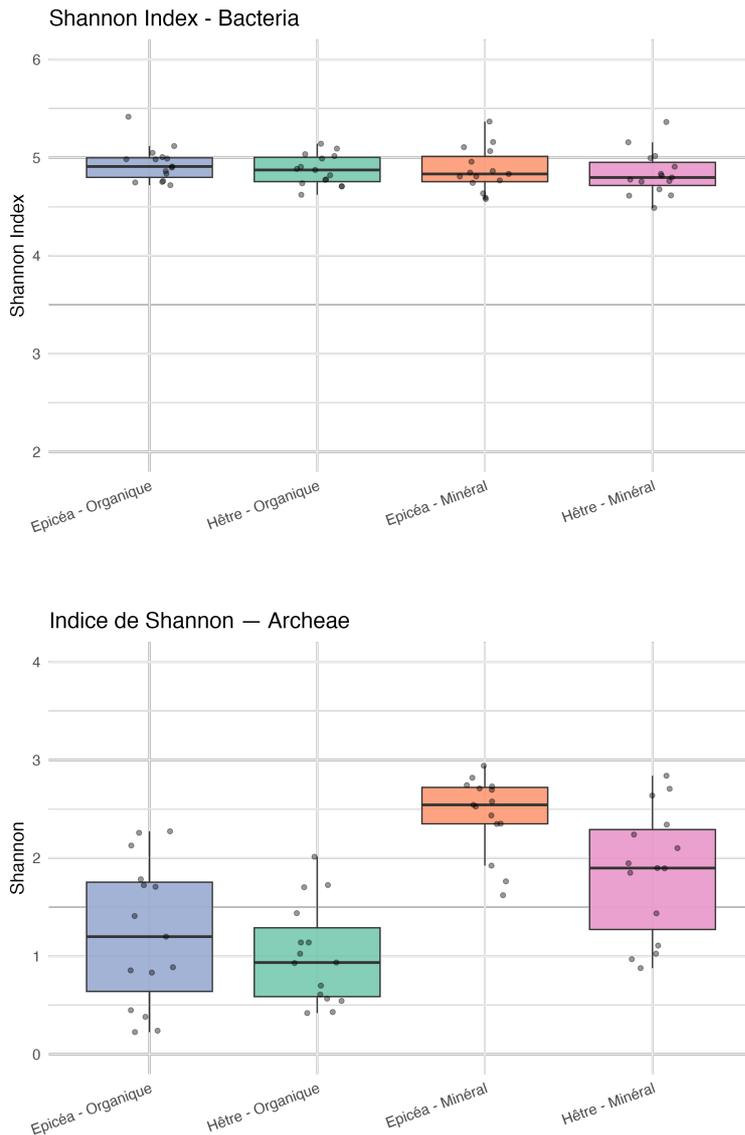


Figure 12 : Indice de Shannon des communautés de champignons, de bactéries et d'archées selon les conditions écologiques des sols forestiers (horizons organique et minéral sous épicea ou hêtre). Les boîtes représentent les distributions des indices de diversité. Chaque point correspond à un échantillon individuel. La ligne horizontale représente la médiane, les limites des boîtes les 1er et 3e quartiles, et les moustaches les valeurs extrêmes sans les valeurs aberrantes.

L'analyse de la diversité  $\alpha$  à l'aide de l'**indice de Shannon** révèle des situations distinctes entre les communautés microbiennes selon leur domaine taxonomique (champignons, bactéries, archées) et leur distribution dans les différents types de sol (essence  $\times$  horizon).

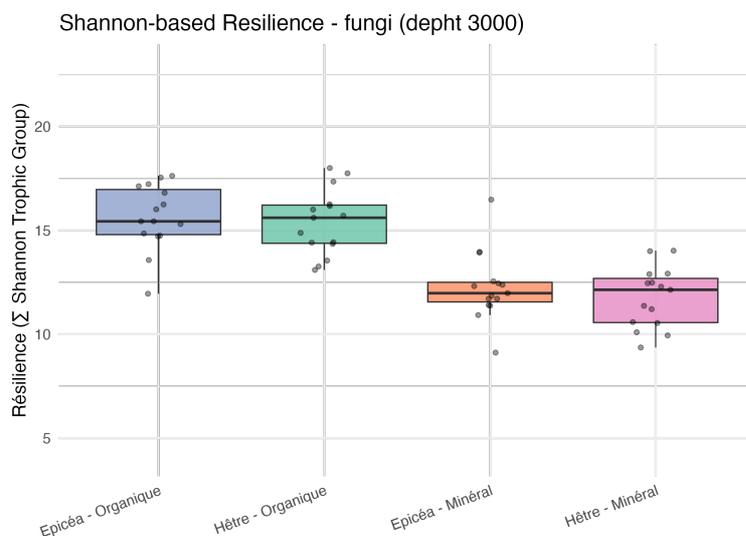
Pour les **champignons**, la diversité est significativement plus élevée dans les horizons organiques, quelle que soit l'essence forestière (Tableau 6). Ce résultat s'explique probablement par la richesse en substrats carbonés, la présence de racines fines, ainsi que la prédominance de formes mycorhiziennes et saprotrophes dans les couches superficielles du sol forestier (Anderson and Cairney, 2007).

Les communautés **bactériennes** montrent une diversité homogène entre les groupes étudiés, sans différence significative observée à l'échelle des indices  $\alpha$  (Tableau 7), ce qui suggère une relative tolérance aux variations des conditions édaphiques. Cette stabilité pourrait être liée à leur stratégie de généralistes, appuyée par une redondance fonctionnelle élevée, notamment pour les processus de minéralisation. Néanmoins, des variations plus fines de composition taxonomique pourraient apparaître à des résolutions plus élevées (ex. : niveau de genre), non détectées par l'approche utilisée ici.

Les **archées** montrent un pattern distinct avec des indices de Shannon nettement plus élevés dans les horizons minéraux (Tableau 8). Leur diversité Shannon est aussi significativement plus élevée dans l'horizon organique sous hêtre comparé à l'horizon organique sous épicéa. Ce résultat, est cohérent avec le mode de vie de nombreuses archées du sol, souvent spécialisées dans des processus tels que la nitrification ou la dégradation de composés récalcitrants, et adaptées à des conditions oligotrophes (Offre et al., 2013) (Lehtovirta-Morley, 2018). En particulier, la classe *Nitrososphaeria* (archées ammonia-oxydantes) est connue pour prospérer dans des environnements minéraux pauvres en ammoniac.

#### B4.2.4. Indice de résilience de la communauté microbienne

Afin d'évaluer la stabilité potentielle des communautés microbiennes face aux perturbations, nous avons estimé leur résilience. Cette résilience a été définie comme la somme des diversités de Shannon calculées au sein des principaux phyla ou classes dominants dans chaque communauté (champignons, bactéries, archées), à partir de sous-échantillons standardisés. La communauté est d'autant plus résiliente que le nombre d'espèces moléculaires (OTUs) observées est élevé, et que leurs abondances relatives sont similaires (bonne équitabilité). Dans les communautés avec peu d'espèces ou des abondances déséquilibrées, la probabilité de perte d'espèces en cas de perturbation est plus élevée que dans des communautés riches en espèces et à répartition équitable. Ces dernières sont donc plus résilientes.



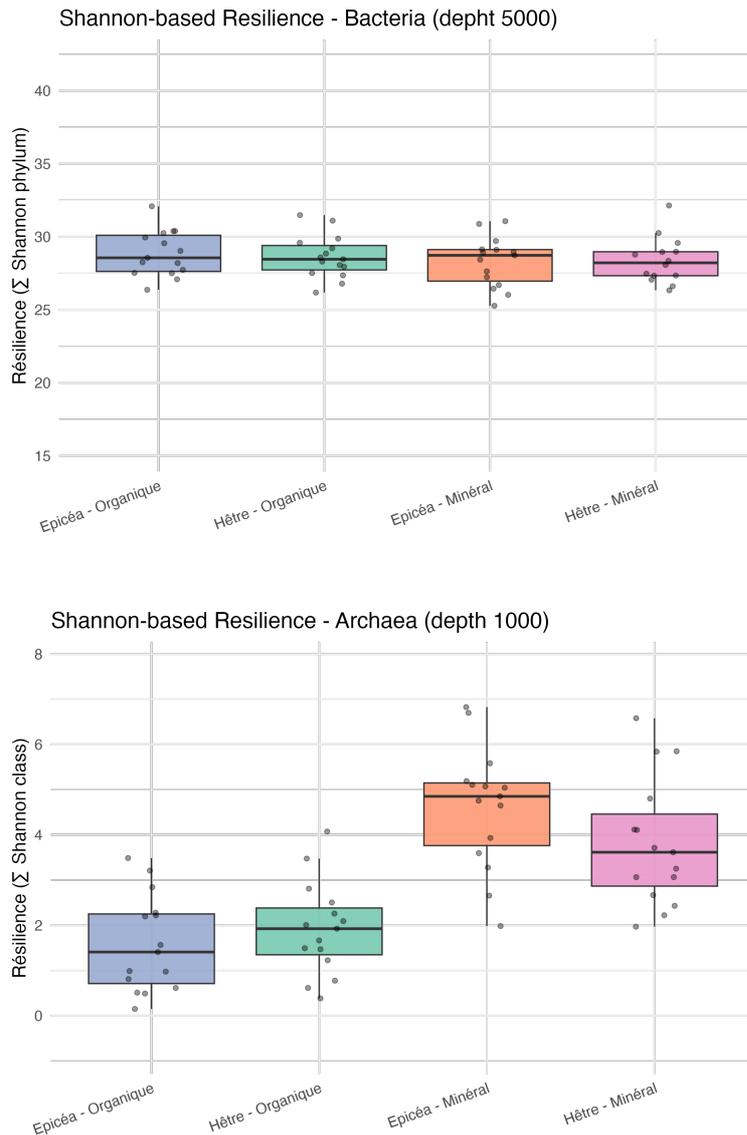


Figure 13 : Indice de résilience estimé à partir de l'indice de Shannon des communautés de champignons, de bactéries et d'archées selon les conditions écologiques des sols forestiers (horizons organique et minéral sous épicéa ou hêtre). Les boîtes représentent les distributions des indices de résilience. Chaque point correspond à un échantillon individuel. La ligne horizontale représente la médiane, les limites des boîtes les 1<sup>er</sup> et 3<sup>e</sup> quartiles, et les moustaches les valeurs extrêmes sans les valeurs aberrantes.

L'analyse de la résilience microbienne, estimée à partir de la somme des indices de Shannon calculés par groupes trophiques, phyla ou classes, révèle des résultats contrastées selon le groupe microbien étudié. Pour les **champignons**, les valeurs de résilience sont significativement plus élevées (Tableau 6) dans l'horizon organique que dans l'horizon minéral, avec un maximum observé dans le groupe « Épicéa - Organique ». Cela est cohérent avec la richesse fongique plus élevée et équilibrée dans les horizons organiques, probablement liée à la diversité des substrats disponibles et à la complexité trophique accrue dans ces horizons (van der Heijden et al., 2008). Les communautés fongiques semblent donc particulièrement sensibles aux conditions édaphiques liées à la litière et à l'activité racinaire.

La résilience des **communautés bactériennes** présente une plus grande uniformité entre les groupes écologiques, sans différences significatives (Tableau 7), avec des valeurs globalement plus élevées que celles des champignons. Cette stabilité peut être attribuée à la redondance fonctionnelle élevée et à la grande diversité métabolique des bactéries du sol (Philippot et al., 2024), capables de s'adapter à une variété de niches même en conditions abiotiques contrastées. Les bactéries montrent globalement une robustesse fonctionnelle qui les rend moins sensibles à l'effet des horizons et des essences d'arbres.

Les **archées** affichent un profil de résilience inversé, avec des valeurs significativement plus élevées dans les horizons minéraux (Tableau 8), en particulier sous épicéa. Cette observation pourrait refléter la spécialisation trophique de certaines classes dominantes telles que *Nitrososphaeria* ou *Thermoplasmata*, connues pour leur rôle dans la nitrification ou la dégradation de composés complexes en milieu oligotrophe (Offre et al., 2013).

#### B4.2.5. Indice de redondance fonctionnelle

La redondance fonctionnelle fait référence à la capacité de plusieurs espèces à remplir des fonctions similaires dans un écosystème. Une redondance élevée suggère un système potentiellement plus résilient aux perturbations, car la perte de certaines espèces pourrait être compensée par d'autres fonctionnellement équivalentes. Pour les bactéries, on considère que les phyla contiennent des espèces avec des fonctions similaires, et la redondance est estimée en calculant les Chao-1 séparément pour chacun des 10 phyla les plus abondants. Pour les archées, la même analyse est réalisée au niveau des classes. Pour les champignons, la redondance est calculée par l'estimation des Chao-1 pour les 10 principaux groupes trophiques. La redondance totale d'un système est estimée par la somme de ces Chao-1, séparément pour les bactéries, les champignons et les archées.

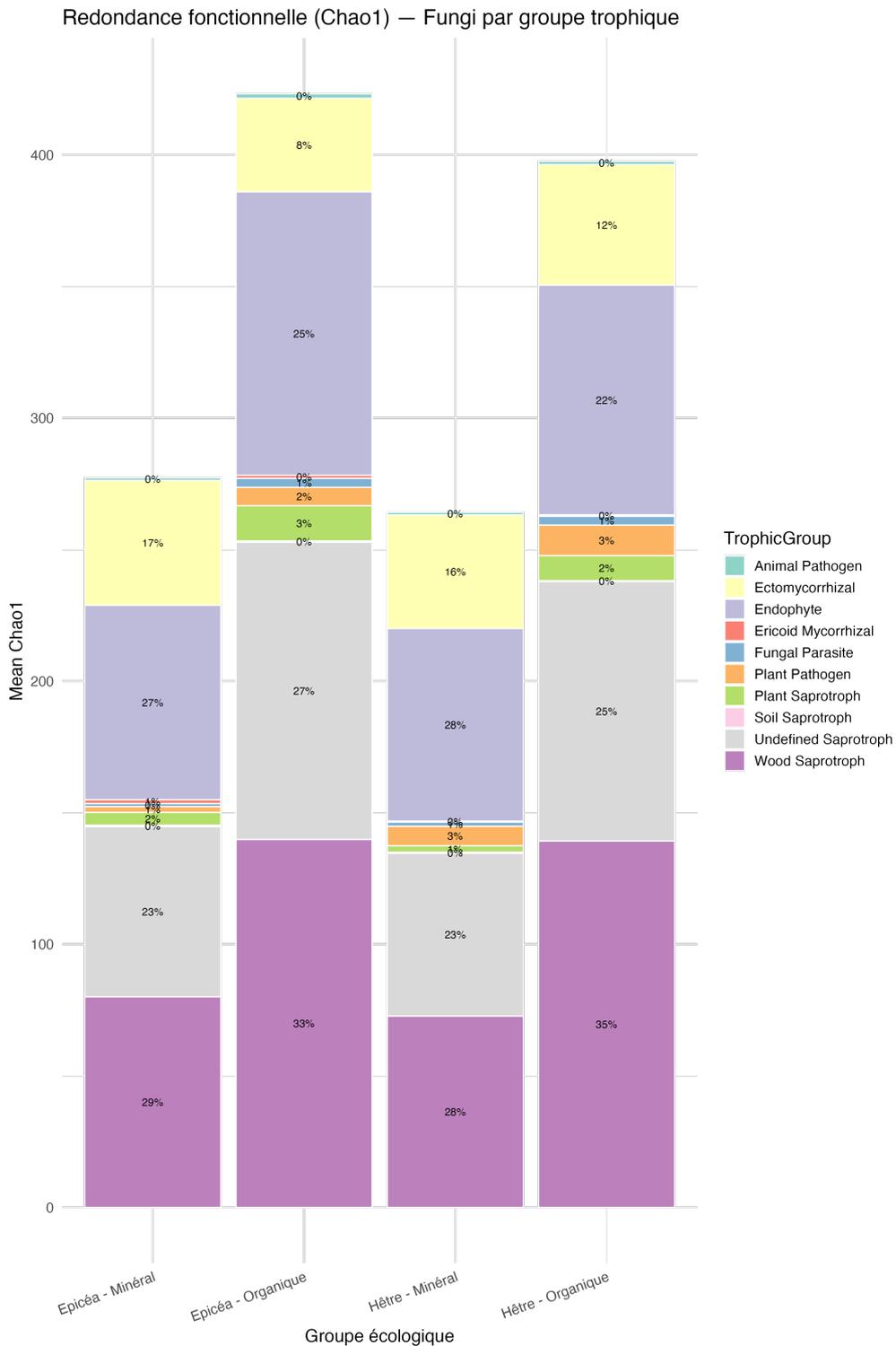


Figure 14 : Redondance fonctionnelle des champignons du sol estimée par l'indice de Chao1, regroupée par groupes trophiques fongiques dominants. Les barres empilées représentent les valeurs moyennes de Chao1 pour chaque groupe trophique au sein de quatre groupes écologiques définis par l'essence forestière (épicéa vs hêtre) et l'horizon du sol (organique vs minéral). Les pourcentages indiquent la contribution relative de chaque groupe trophique à la redondance totale. L'analyse repose sur les 10 groupes trophiques les plus fréquentes après classification fonctionnelle des OTUs fongiques.

La redondance fonctionnelle des groupes trophiques des champignons des sols étudiés est significativement plus élevée dans les horizons organiques (Tableau 6) et dominée par les saprotrophes (Fig. 14). Le groupe ‘Undefined Saprotroph’, également très présent (23–28 %), pourrait inclure des lignicoles ou des décomposeurs de litière-généralistes insuffisamment caractérisés, soulignant la complexité et les limites des bases de données actuelles (Nguyen et al., 2015).

1. Le groupe ‘Wood Saprotroph’ se distingue comme la guilda fonctionnelle la plus diversifiée dans tous les groupes écologiques, représentant entre 28 % et 35 % de la richesse fongique estimée (indice Chao1). Ce résultat est attendu dans les écosystèmes forestiers, où les champignons lignicoles jouent un rôle clé dans la dégradation de la matière organique ligneuse (Baldrian, 2017). Leur forte représentation dans les horizons organiques reflète une disponibilité accrue en substrats ligneux décomposables.

2. Importance notable des endophytes : ce groupe trophique représente 22 à 28 % de la redondance. Les endophytes, souvent mutualistes, colonisent les tissus végétaux vivants sans symptôme visible. Leur forte contribution à la redondance fonctionnelle dans le sol peut s’expliquer par la présence de leur ADN dans les tissus végétaux morts, mais également par leur rôle saprophyte secondaire permettant leur participation à la décomposition de la matière organique une fois leur hôte mort. Ils constituent aussi un réservoir d’inoculum, permettant de coloniser les plantules.

3. Les champignons ectomycorhiziens (EcM) montrent une redondance fonctionnelle plus élevée dans les horizons minéraux, notamment sous épicéa (17 %). Leur faible représentation dans les horizons organiques (8 % sous épicéa) peut paraître contre-intuitive dans des forêts matures, mais pourrait refléter une réponse à une surcharge chronique en azote atmosphérique (van der Linde et al., 2018). En effet, l’exposition directe de l’horizon organique aux dépôts azotés peut provoquer une modification de la structure communautaire fongique, en favorisant les espèces saprotrophes compétitives au détriment des EcM plus spécialisés (Lilleskov et al., 2011). De plus, les apports azotés peuvent réduire la dépendance des arbres à la symbiose mycorhizienne, en rendant l’azote plus directement disponible dans le sol (Treseder, 2004). Ce relâchement de la symbiose se traduirait alors par un moindre investissement en carbone vers les racines et les partenaires mycorhiziens, affectant leur abondance et leur diversité fonctionnelle (Schmitz et al., 2024). Enfin, dans les forêts d’épicéa à litière acide et difficilement décomposable, les conditions physico-chimiques de l’horizon organique (faible pH, accumulation de phénols, limitation du phosphore) sont peu propices à la dominance mycorhizienne et favorisent au contraire les guildes saprotrophes spécialisées dans la dégradation de lignine (Phillips et al., 2013). Ces éléments pourraient expliquer pourquoi la redondance fonctionnelle des EcM est plus marquée dans les horizons minéraux, où les conditions sont plus stables, moins exposées aux dépôts et plus directement en lien avec les zones actives du système racinaire. Ces résultats appellent à considérer l’hétérogénéité verticale des communautés fongiques, ainsi que leurs réponses différentielles à l’eutrophisation azotée croissante des écosystèmes forestiers européens.

4. Présence modeste mais significative des pathogènes : les guildes “Plant Pathogen” et “Fungal Parasite” représentent une faible proportion de la redondance (1–3 %), ce qui suggère une bonne santé phytosanitaire globale des sols. Toutefois, leur présence dans tous les groupes souligne l’importance de surveiller les déséquilibres potentiels.

Cette analyse révèle une organisation fonctionnelle dominée par les saprotrophes et les endophytes, qui contribuent aux fonctions essentielles de décomposition et de stabilisation de l’écosystème forestier. La forte représentation des Wood Saprotrophs et des Ectomycorhiziens suggère une complémentarité entre recyclage de la matière organique et nutrition végétale. La redondance fonctionnelle est globalement plus élevée dans les horizons organiques (Tableau 6). Ces observations soutiennent l’idée que les fonctions assurées par les champignons sont partagées par de multiples taxons (i.e., redondance fonctionnelle), un facteur reconnu comme pouvant contribuer à la résilience écosystémique face aux perturbations (Allison and Martiny, 2008).

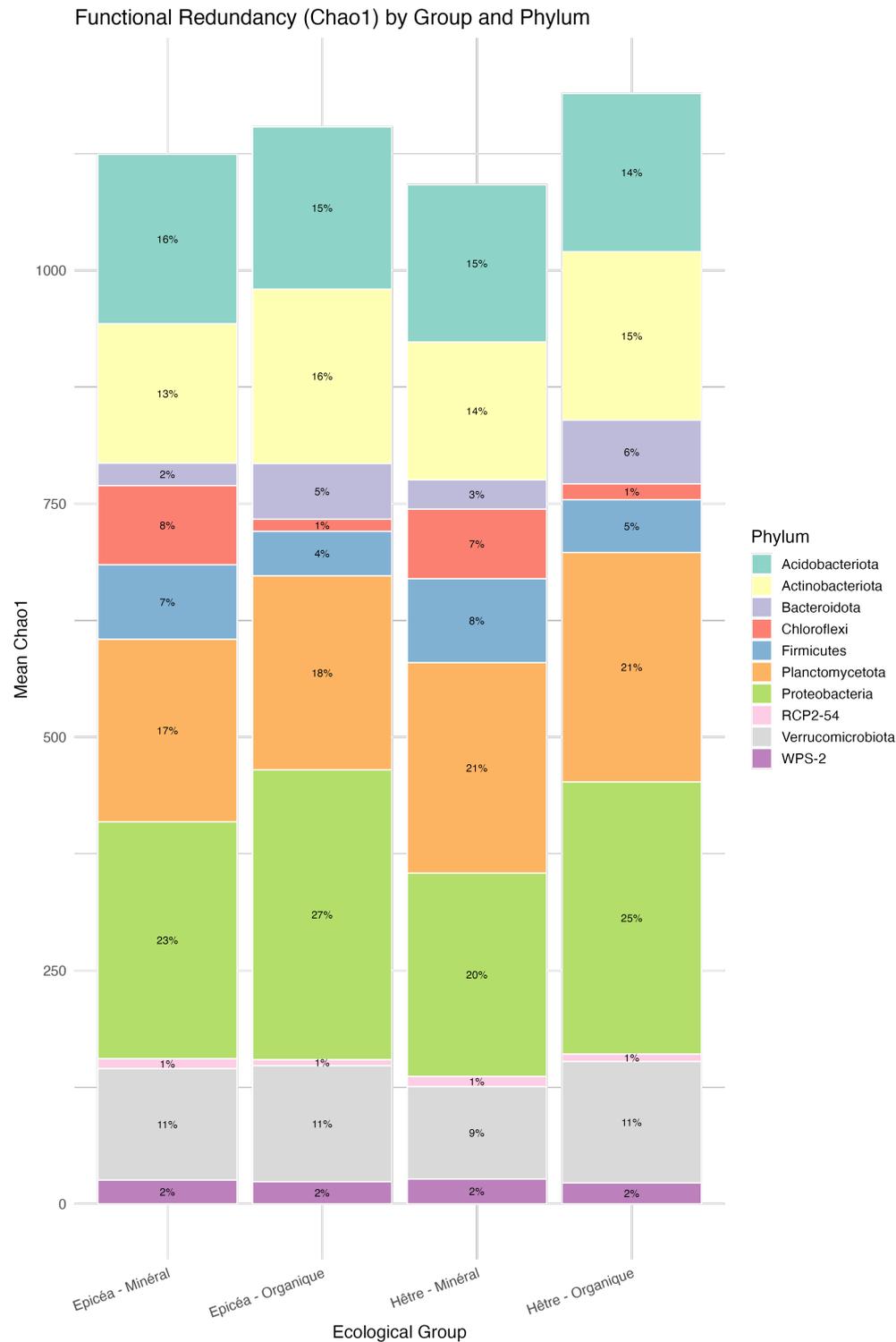


Figure 15 : Redondance fonctionnelle bactérienne selon les quatre groupes écologiques définis par les essences forestières (épicéa vs hêtre) et les horizons du sol (organique vs minéral). Les valeurs de redondance sont estimées à partir de l'indice de Chao1, calculé pour les 10 phylums les plus abondants après raréfaction (profondeur 5000 pour les bactéries, seed = 42). Chaque barre représente la somme des estimations de richesse pour les principaux phyla bactériens, exprimée en valeur moyenne. Les pourcentages indiquent la contribution relative de chaque phylum au sein du groupe.

Pour les bactéries, il n'y a pas de différences significatives pour la redondance fonctionnelle, calculée à partir des phyla, entre les 4 groupes écologiques (Fig. 15, tableau 7). Quatre phyla dominent largement la contribution à la redondance fonctionnelle estimée (Chao1) dans les sols forestiers étudiés (Fig. 15) : les **Proteobacteria** (25–27 %), les **Planctomycetota** (20–21 %), les **Acidobacteriota** (13–16 %) et les **Actinobacteriota** (13–15 %).

Les **Proteobacteria**, en particulier, se distinguent comme le phylum dominant dans tous les contextes écologiques, avec une représentation plus élevée dans les horizons organiques (jusqu'à 27 % sous épicéa). Leur diversité métabolique et leur capacité à exploiter des substrats riches en carbone labile en font des acteurs centraux des cycles biogéochimiques, notamment ceux du carbone et de l'azote (Fierer et al., 2007).

Les **Planctomycetota**, deuxième groupe en importance, présentent une contribution relativement stable (20–21 %) à la redondance fonctionnelle. Ce groupe est souvent associé à la dégradation de composés organiques complexes, à une tolérance à la faible disponibilité en nutriments, et à des conditions à faible teneur en oxygène (Dedysh and Ivanova, 2019). Leur représentation importante, notamment dans les sols sous hêtre, suggère une participation notable à la résilience fonctionnelle de ces sols.

Les **Actinobacteriota** et **Acidobacteriota** figurent également parmi les groupes les plus représentés. Les premiers sont reconnus pour leur rôle dans la dégradation de la matière organique récalcitrante, ainsi que pour la synthèse de métabolites secondaires comme les antibiotiques. Les seconds, souvent abondants dans les sols forestiers acides, jouent un rôle important dans les cycles du carbone et du phosphore, et témoignent d'une forte adaptabilité aux faibles niveaux de pH (Delgado-Baquerizo et al., 2018).

Parmi les phyla contribuant moins à la redondance, on retrouve les **Firmicutes**, davantage observés dans les horizons minéraux. Leur capacité à former des spores leur permet de résister à des conditions de stress, ce qui pourrait refléter une plus grande variabilité ou sévérité environnementale dans ces compartiments du sol. Les **Chloroflexi**, également plus présents dans les horizons minéraux, sont connus pour leur spécialisation fonctionnelle, notamment dans la dégradation anaérobie de polymères organiques.

L'absence de différences significatives dans la redondance fonctionnelle des phyla bactériens entre les quatre groupes écologiques pourrait s'expliquer par la grande hétérogénéité taxonomique et fonctionnelle observée au sein d'un même phylum. Un calcul de la redondance fonctionnelle à des niveaux taxonomiques plus fins, ou basé sur des groupes fonctionnels, pourrait fournir des informations plus précises.

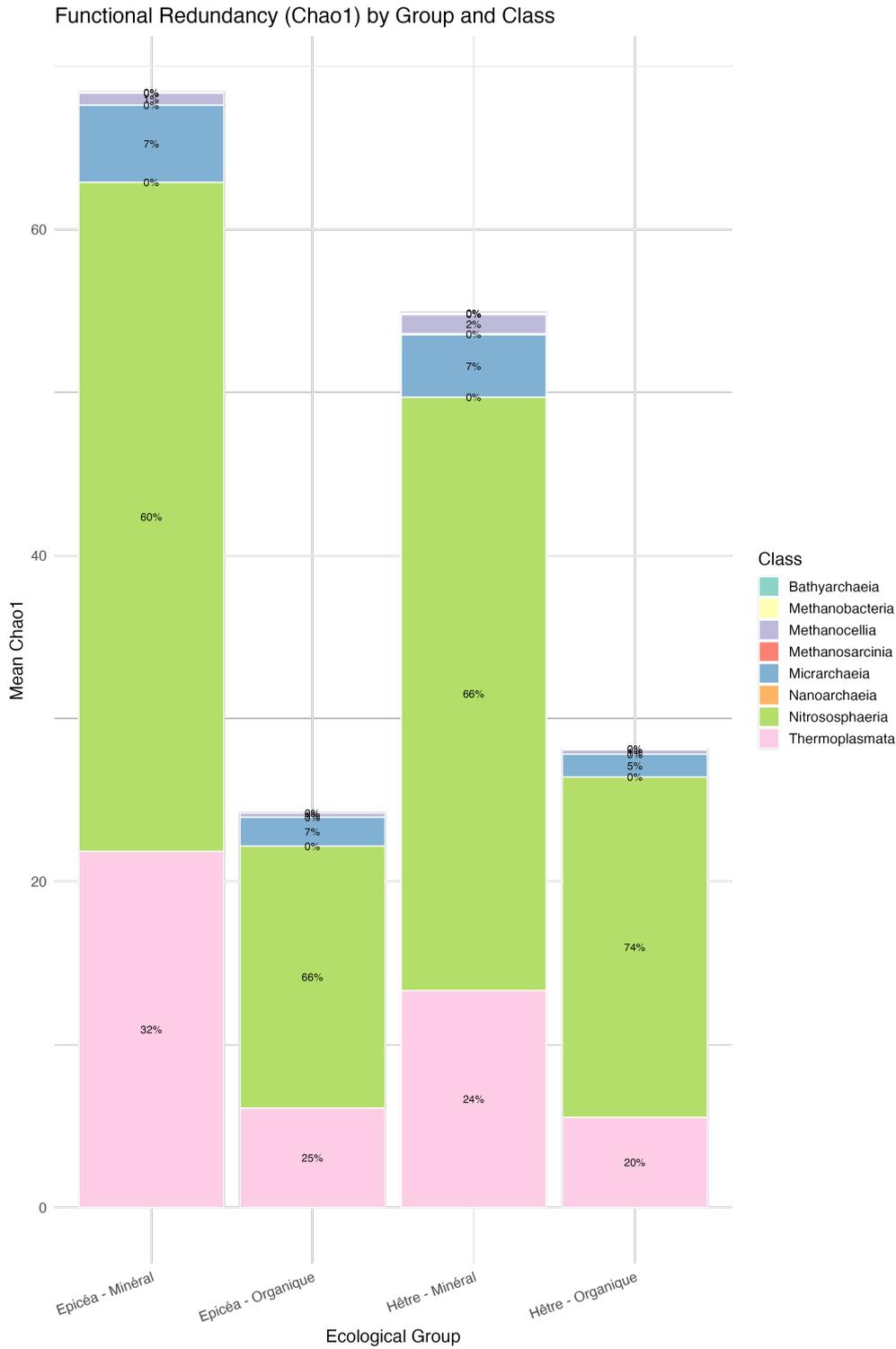


Figure 16 : Redondance fonctionnelle des archées du sol estimée par l'indice de Chao1, regroupée par classes dominantes. Les barres empilées représentent les valeurs moyennes de Chao1 pour chaque classe au sein de quatre groupes écologiques définis par l'essence forestière (épicéa vs hêtre) et l'horizon du sol (organique vs minéral). Les pourcentages indiquent la contribution relative de chaque classe à la redondance totale. L'analyse repose sur les 8 classes.

La redondance fonctionnelle des archées des sols étudiés est dominée par deux classes: **Nitrososphaeria** et **Thermoplasmata**. Ces deux classes représentent ensemble plus de 80 % de la contribution à la redondance totale (Fig. 16). Contrairement aux bactéries et aux champignons, la redondance fonctionnelle des archées est plus élevée dans l'horizon organo-minéral (Tableau 8).

La classe de Nitrososphaeria (anc. Thaumarchaeota) sont des archées largement présentes dans les sols, où elles jouent un rôle central dans la **nitrification**, en oxydant l'ammoniac en nitrite. Elles sont supposées particulièrement actives dans des sols pauvres en azote ammoniacal, où elles peuvent surpasser les bactéries nitrifiantes en abondance. Cette potentielle dominance sur les bactéries en milieu pauvre en ammoniac pourrait expliquer la richesse plus importante dans les horizons organo-minéraux relative à celle des horizons organiques. Leur plus faible redondance fonctionnelle dans les horizons organiques sous les deux essences pourrait indiquer une plus grande sensibilité du processus de nitrification dans ces horizons. Cependant, cette information devrait être vérifiée par analyse spécifique de la diversité et de l'activité des archées et bactéries nitrifiantes, déterminant le rôle relatif de ces organismes sous différentes essences et dans différents horizons.

Les Thermoplasmata sont une classe d'archées appartenant au phylum Thermoplasmata (anc. Euryarchaeota). Dans les sols, leur rôle n'est encore que partiellement compris, mais plusieurs études suggèrent qu'ils pourraient participer à la dégradation de la matière organique et à divers processus du cycle du carbone. Certains membres de ce groupe, notamment ceux identifiés uniquement par des séquences (groupes "candidatus"), sont très abondants dans les écosystèmes terrestres, ce qui suggère une importance écologique sous-estimée. Comme pour les Nitrososphaeria, la redondance fonctionnelle des Thermoplasmata est plus importante dans les horizons minéraux.

Les autres classes archéennes, comme **Methanocellia**, **Methanobacteria**, **Nanoarchaeia** ou **Bathyarchaeia**, ne contribuent que très faiblement à la redondance (souvent <5 %), suggérant que les **voies métaboliques méthanogènes ou de dégradation anaérobie spécifique** restent marginales dans ces sols bien drainés.

Parmi les autres classes détectées, **Micrarchaeia** se distingue par une contribution non négligeable à la redondance (jusqu'à 7 % selon les groupes). Bien que cette classe soit encore peu caractérisée, les Micrarchaeota sont connues pour leur très petite taille cellulaire et leur mode de vie symbiotique avec d'autres archées, notamment des Thermoplasmatales (Golyshina et al., 2017)(Krause et al., 2022). Leur présence dans des environnements acides et riches en composés organiques, comme les horizons forestiers, suggère qu'elles pourraient jouer un rôle complémentaire dans les chaînes trophiques microbiennes, possiblement en dépendance métabolique avec d'autres archées hôtes. Leur détection dans ces sols témoigne de la complexité des interactions microbiennes encore largement sous-explorées dans les écosystèmes forestiers.

Groupes écologiques	Redondance	Résilience	Chao1	H'
Epicéa - Minéral vs Epicéa - Organique	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
Epicéa - Minéral vs Hêtre - Minéral	0,842	0,739	0,678	0,458
Epicéa - Organique vs Hêtre - Minéral	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>	<b>0,000</b>
Epicéa - Minéral vs Hêtre - Organique	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>	<b>0,004</b>
Epicéa - Organique vs Hêtre - Organique	0,765	0,834	0,714	0,275
Hêtre - Minéral vs Hêtre - Organique	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,003</b>	<b>0,000</b>

Tableau 6 : comparaisons post-hoc entre groupes écologiques pour la diversité microbienne des Champignons. Valeurs de  $p$  ajustées (méthode Benjamini-Hochberg) issues des tests post-hoc de Dunn, réalisés suite à un test de Kruskal-Wallis significatif ( $p < 0,05$ ). Les comparaisons sont effectuées entre les groupes écologiques pour quatre indices de diversité : la redondance fonctionnelle, la résilience, l'indice de richesse de Chao1, et l'indice de diversité de Shannon ( $H'$ ). Les valeurs en gras indiquent les comparaisons significatives ( $p$  ajusté  $< 0,05$ ).

Groupes écologiques	Redondance	Résilience	Chao1	H'
Epicéa - Minéral vs Epicéa - Organique	NS	NS	NS	NS
Epicéa - Minéral vs Hêtre - Minéral	NS	NS	NS	NS
Epicéa - Organique vs Hêtre - Minéral	NS	NS	NS	NS
Epicéa - Minéral vs Hêtre - Organique	NS	NS	NS	NS
Epicéa - Organique vs Hêtre - Organique	NS	NS	NS	NS
Hêtre - Minéral vs Hêtre - Organique	NS	NS	NS	NS

Tableau 7 : comparaisons entre groupes écologiques pour la diversité microbienne des bactéries, test de Kruskal-Wallis non significatif (NS) ( $p < 0,05$ ). Les comparaisons sont effectuées entre les groupes écologiques pour quatre indices de diversité : la redondance fonctionnelle, la résilience, l'indice de richesse de Chao1, et l'indice de diversité de Shannon ( $H'$ ).

Groupes écologiques	Redondance	Résilience	Chao1	H'
Epicéa - Minéral vs Epicéa - Organique	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,106	<b>0,000</b>
Epicéa - Minéral vs Hêtre - Minéral	0,244	0,290	0,321	<b>0,047</b>
Epicéa - Organique vs Hêtre - Minéral	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	0,408	<b>0,039</b>
Epicéa - Minéral vs Hêtre - Organique	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,003</b>	<b>0,000</b>
Epicéa - Organique vs Hêtre - Organique	0,580	0,850	0,175	0,551
Hêtre - Minéral vs Hêtre - Organique	<b>0,004</b>	<b>0,001</b>	<b>0,050</b>	<b>0,010</b>

Tableau 8 : comparaisons post-hoc entre groupes écologiques pour la diversité microbienne des Archées. Valeurs de  $p$  ajustées (méthode Benjamini-Hochberg) issues des tests post-hoc de Dunn, réalisés suite à un test de Kruskal-Wallis significatif ( $p < 0,05$ ). Les comparaisons sont effectuées entre les groupes écologiques pour quatre indices de diversité : la redondance fonctionnelle, la résilience, l'indice de richesse de Chao1, et l'indice de diversité de Shannon ( $H'$ ). Les valeurs en gras indiquent les comparaisons significatives ( $p$  ajusté  $< 0,05$ ).

### **Interprétation globale des résultats (biodiversité microbienne des sols forestiers sous hêtre et épicéa):**

L'étude de la diversité et de la structure fonctionnelle des communautés microbiennes (champignons, bactéries, archées) dans les sols forestiers d'Ardenne, différenciés selon l'essence dominante (hêtre vs épicéa) et l'horizon (organique vs minéral), met en évidence

plusieurs tendances clés pour la compréhension du fonctionnement des sols et l'orientation des pratiques de gestion.

Les champignons présentent la richesse spécifique la plus élevée, avec une forte différenciation entre horizons : les horizons organiques, indépendamment de l'essence dominante, affichent systématiquement des indices de diversité (Chao1 et Shannon) significativement plus élevés. Cette diversité est principalement portée par les saprotrophes du bois et les endophytes, dominants dans les horizons organiques, où ils assurent une forte redondance fonctionnelle. Les ectomycorhiziens y sont moins représentés, possiblement en lien avec les dépôts azotés. La résilience des communautés fongiques, estimée par la diversité fonctionnelle, suit les mêmes tendances et est significativement plus élevée dans les horizons organiques.

Les bactéries montrent une richesse importante et homogène entre les différents groupes écologiques. Leur diversité et leur résilience apparaissent stables, ce qui témoigne d'une robustesse structurelle face aux variations édaphiques. La redondance fonctionnelle bactérienne repose sur quatre phyla dominants (Proteobacteria, Planctomycetota, Acidobacteriota, Actinobacteriota), avec une prédominance des Proteobacteria dans les horizons organiques. L'absence de différences significatives entre groupes écologiques pourrait s'expliquer par la diversité fonctionnelle interne à chaque phylum, suggérant qu'une analyse à des niveaux taxonomiques plus fins permettrait de mieux détecter d'éventuelles variations.

Les archées, bien que moins diversifiées, présentent des différences marquées entre groupes : leur richesse et leur résilience sont significativement plus élevées dans les horizons minéraux, en particulier sous épicea. Deux classes dominent : Nitrososphaeria, impliquées dans la nitrification, et Thermoplasmata, dont le rôle reste mal défini mais potentiellement important dans le cycle du carbone. Ces groupes contribuent à une redondance fonctionnelle archéenne plus élevée dans les horizons minéraux.

Enfin, ces résultats suggèrent des implications concrètes pour la gestion forestière. Les horizons organiques, en particulier sous hêtre, se distinguent par une richesse fongique élevée et une redondance fonctionnelle marquée, notamment dans les fonctions de décomposition et de recyclage du carbone. Cette configuration pourrait conférer une résilience accrue des fonctions écosystémiques clés.

La diversité et la résilience des communautés microbiennes dépendent fortement de l'horizon du sol, et secondairement de l'essence forestière. Une gestion qui favorise la diversité de la litière, la stratification des horizons et la mixité des essences (notamment feuillues) pourrait soutenir la stabilité des fonctions microbiennes du sol, essentielles à la résilience globale des écosystèmes forestiers.

## **B5. Valoriser et disséminer les résultats des recherches**

Le laboratoire est membre de divers réseaux :

- NETSOB « International Network on Soil Biodiversity » (FAO Global Soil Partnership) participation à : Groupe de travail-1 sur la mesure, l'évaluation et le suivi de la biodiversité des sols ; Groupe de travail-2 sur l'utilisation durable, la gestion et la conservation de la biodiversité des sols.
- GLOSOLAN « Global Soil Laboratory network » (FAO Global Soil Partnership) et BESOLAN Belgium Soil Laboratory Network: participation aux travaux d'harmonisation des procédures opérationnelles standard (SOP) d'analyses des sols; expert du comité d'examen pour les techniques de mesure de « Microbial biomass C and N by chloroform fumigation-extraction », « Soil respiration rate », participation aux groupes de travail pour d'autres mesures (en préparation).
- SoilBON (« Soil Biodiversity Observation Network ») : participation à l'effort mondial coordonné pour surveiller la biodiversité des sols et la fonction des écosystèmes par l'échantillonnage de sols et d'eau dans nos sites pour l'analyse de la diversité microbienne dans le cadre d'une initiative conjointe SoilBON et LTER (2022).

## **B6. Documents et/ou outils (livrables) produits et à produire modifiés le cas échéant et raisons**

- Base de données : mise à jour
- Rapport de recherche : ce document
- Soumission d'un article scientifique dans une revue internationale : en cours de rédaction
- Publication d'un article de vulgarisation : La lettre de l'Observatoire wallon santé des forêts 2024 (N°12) : Bernard Bosman, Sophia Ratcliffe et Monique Carnol (2025). Les forêts en Haute Ardenne : 30 ans d'études sur la santé des écosystèmes et les polluants atmosphériques, Lettre de l'OSF 12 : 16-23 (Bosman et al., 2025)
- Collecte de données pour le rapportage 2028 de NEC (Directive UE n° 2016/2284) (5 parcelles - mensuellement : 60 échantillons, 690 analyses chimiques, volumes ; 1 exutoire -bimensuellement : 2 échantillons, 30 analyses chimiques, volumes ; moyennes mensuelles de la température du sol et de l'eau)
- Réalisé, initialement non prévu dans la subvention : données nécessaires aux calculs des **charges critiques** transmises pour les 5 dernières années au SITEREM, pluviollessivats, pluies et eaux des exutoires (les seules disponibles pour la Wallonie)

## **B7. Collaborations diverses (tous niveaux confondus)**

Le Dr. Anne Chandelier (CRA) est intervenue dans un cours du Prof. Carnol pour sensibiliser les étudiants aux maladies émergentes des essences forestières (mars 2022, 2023, 2024 et 2025). Des sujets de mémoire en commun ont été proposés aux étudiants.

## **B8. Autres références éventuellement citées (bibliographie utilisée le cas échéant).**

- Allison, S.D., Martiny, J.B.H., 2008. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 11512–11519. doi:10.1073/pnas.0801925105
- Anderson, I.C., Cairney, J.W.G., 2007. Ectomycorrhizal fungi: exploring the mycelial frontier. *FEMS Microbiology Reviews* 31, 388–406. doi:10.1111/j.1574-6976.2007.00073.x
- Baldrian, P., 2017. Forest microbiome: diversity, complexity and dynamics. *FEMS Microbiology Reviews* 41, 109–130. doi:10.1093/femsre/fuw040
- Baldrian, P., Martinovic, T., Fort, T., Adamczyk, B., Brabcova, V., 2024. Harmonised methodologies for analysis of soil biodiversity, functional redundancy & community resilience in forest soils. <https://holisoils.eu/wp-content/uploads/2024/05/D1.4-Harmonised-methodologies-for-analysis-of-soil-biodiversity-functional-redundancy-community-resilience-in-forest-soils.pdf>
- Beguería, S., Peña-Angulo, D., Trullenque-Blanco, V., González-Hidalgo, C., 2023. MOPREDAScentury: a long-term monthly precipitation grid for the Spanish mainland. *Earth System Science Data* 15, 2547–2575. doi:10.5194/essd-15-2547-2023
- Bosman, B., Carnol, M., 2024. Etude à long terme de la biogéochimie des écosystèmes forestiers. <https://orbi.uliege.be/handle/2268/324035>
- Bosman, B., Ratcliffé, S., Carnol, M., 2025. Les forêts en Haute Ardenne : 30 ans d'études sur la santé des écosystèmes et les polluants atmosphériques. *La lettre d'info de L'OSF - données 2024* 16–23. [https://environnement.wallonie.be/files/eDocs%20Environnement/Milieux/nature\\_et\\_forets/forets\\_waltonnes/Sant%c3%a9%20des%20for%c3%aats/Rapports%20annuels/La%20lettre%20d%20info%20OWSF%20n%c2%b012-donn%c3%a9es%202024.pdf](https://environnement.wallonie.be/files/eDocs%20Environnement/Milieux/nature_et_forets/forets_waltonnes/Sant%c3%a9%20des%20for%c3%aats/Rapports%20annuels/La%20lettre%20d%20info%20OWSF%20n%c2%b012-donn%c3%a9es%202024.pdf)
- Clements, C.F., Ozgul, A., 2018. Indicators of transitions in biological systems. *Ecology Letters* 21, 905–919. doi:10.1111/ele.12948
- Contosta, A.R., Battles, J.J., Campbell, J.L., Driscoll, C.T., Garlick, S.R., Holmes, R.T., Likens, G.E., Rodenhouse, N.L., Rogers, S.H., Templer, P.H., Vadeboncoeur, M.A., Groffman, P.M., 2023. Early warning signals of changing resilience in the biogeochemistry and biology of a northern hardwood forest. *Environmental Research Letters* 18, 094052. doi:10.1088/1748-9326/acf3fe
- Dedysh, S.N., Ivanova, A.A., 2019. Planctomycetes in boreal and subarctic wetlands: diversity patterns and potential ecological functions. *FEMS Microbiology Ecology* 95. doi:10.1093/femsec/fiy227
- Delgado-Baquerizo, M., Oliverio, A.M., Brewer, T.E., Benavent-González, A., Eldridge, D.J., Bardgett, R.D., Maestre, F.T., Singh, B.K., Fierer, N., 2018. A global atlas of the dominant bacteria found in soil. *Science* 359, 320–325. doi:10.1126/science.aap9516
- Drake, J.M., Griffen, B.D., 2010. Early warning signals of extinction in deteriorating environments. *Nature* 467, 456–459. doi:10.1038/nature09389
- Fierer, N., Bradford, M.A., Jackson, R.B., 2007. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology* 88, 1354–1364. doi:10.1890/05-1839
- Forzieri, G., Dakos, V., McDowell, N.G., Ramdane, A., Cescatti, A., 2022. Emerging signals of declining forest resilience under climate change. *Nature* 608, 534–539. doi:10.1038/s41586-022-04959-9
- Golyshina, O.V., Toshchakov, S.V., Makarova, K.S., Gavrillov, S.N., Korzhenkov, A.A., La Cono, V., Arcadi, E., Nechitaylo, T.Y., Ferrer, M., Kublanov, I.V., Wolf, Y.I., Yakimov, M.M., Golyshin, P.N., 2017. 'ARMAN' archaea depend on association with

- euryarchaeal host in culture and in situ. *Nature Communications* 8, 60.  
doi:10.1038/s41467-017-00104-7
- Holling, C.S., 1973. Resilience and Stability of Ecological Systems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 4, 1–23.  
doi:10.1146/annurev.es.04.110173.000245
- Joussemet, F., Titeux, H., Ponette, Q., 2023. Un outil d'aide à la décision pour des pratiques sylvicoles durables. Identifier les zones à risques nutritionnel en forêt wallonne. Tiré à part du Forêt.Nature n° 168 49.
- Krause, S., Gfrerer, S., von Kügelgen, A., Reuse, C., Dombrowski, N., Villanueva, L., Bunk, B., Spröer, C., Neu, T.R., Kuhlicke, U., Schmidt-Hohagen, K., Hiller, K., Bharat, T.A.M., Rachel, R., Spang, A., Gescher, J., 2022. The importance of biofilm formation for cultivation of a Micrarchaeon and its interactions with its Thermoplasmatales host. *Nature Communications* 13, 1–15. doi:10.1038/s41467-022-29263-y
- Lehtovirta-Morley, L.E., 2018. Ammonia oxidation: Ecology, physiology, biochemistry and why they must all come together. *FEMS Microbiology Letters* 365, fny058.  
doi:10.1093/femsle/fny058
- Lilleskov, E.A., Hobbie, E.A., Horton, T.R., 2011. Conservation of ectomycorrhizal fungi: exploring the linkages between functional and taxonomic responses to anthropogenic N deposition. *Fungal Ecology, Conservation Underground: Fungi in a Changing World* 4, 174–183. doi:10.1016/j.funeco.2010.09.008
- Nguyen, N.H., Smith, D., Peay, K., Kennedy, P., 2015. Parsing ecological signal from noise in next generation amplicon sequencing. *New Phytologist* 205, 1389–1393.  
doi:10.1111/nph.12923
- Nieminen, T.M., De Vos, B., Cools, N., König, N., Fischer, R., 2020. MANUAL on methods and criteria for harmonized sampling, assessment, monitoring and analysis of the effects of air pollution on forests Part XI Soil Solution Collection and Analysis.
- Nikinmaa, L., Lindner, M., Cantarello, E., Jump, A.S., Seidl, R., Winkel, G., Muys, B., 2020. Reviewing the Use of Resilience Concepts in Forest Sciences. *Current Forestry Reports* 6, 61–80. doi:10.1007/s40725-020-00110-x
- Novák, M., Kirchner, J.W., Groscheová, H., Havel, M., Černý, J., Krejčí, R., Buzek, F., 2000. Sulfur isotope dynamics in two central european watersheds affected by high atmospheric deposition of SO<sub>x</sub>. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 64, 367–383.  
doi:10.1016/S0016-7037(99)00298-7
- Offre, P., Spang, A., Schleper, C., 2013. Archaea in biogeochemical cycles. *Annual Review of Microbiology* 67, 437–457. doi:10.1146/annurev-micro-092412-155614
- Oksanen, J., Simpson, G.L., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P.R., O'Hara, R.B., Solymos, P., Stevens, M.H.H., Szoecs, E., Wagner, H., Barbour, M., Bedward, M., Bolker, B., Borcard, D., Carvalho, G., Chirico, M., Caceres, M.D., Durand, S., Evangelista, H.B.A., FitzJohn, R., Friendly, M., Furneaux, B., Hannigan, G., Hill, M.O., Lahti, L., McGlenn, D., Ouellette, M.-H., Cunha, E.R., Smith, T., Stier, A., Braak, C.J.F.T., Weedon, J., Borman, T., 2025. *vegan: Community Ecology Package*.
- Philippot, L., Chenu, C., Kappler, A., Rillig, M.C., Fierer, N., 2024. The interplay between microbial communities and soil properties. *Nature Reviews Microbiology* 22, 226–239. doi:10.1038/s41579-023-00980-5
- Phillips, R.P., Brzostek, E., Midgley, M.G., 2013. The mycorrhizal-associated nutrient economy: a new framework for predicting carbon–nutrient couplings in temperate forests. *New Phytologist* 199, 41–51. doi:10.1111/nph.12221
- Ponette, Q., Joussemet, F., Titeux, H., 2020. Identification des zones à risques nutritionnels Rapport succinct.

- Ponette, Q., Titeux, H., Cassart, B., 2018. Identification des zones à risques nutritionnels.
- Potop, V., Boroneanț, C., Možný, M., Štěpánek, P., Skalák, P., 2014. Observed spatiotemporal characteristics of drought on various time scales over the Czech Republic. *Theoretical and Applied Climatology* 115, 563–581. doi:10.1007/s00704-013-0908-y
- Ratcliffe, S., Bosman, B., Carnol, M., 2018. Spatial and temporal variability of biological indicators of soil quality in two forest catchments in Belgium. *Applied Soil Ecology* 126, 148–159. doi:10.1016/j.apsoil.2018.02.020
- Schmitz, A., Sanders, T.G.M., Bolte, A., Bussotti, F., Dirnböck, T., Peñuelas, J., Pollastrini, M., Prescher, A.-K., Sardans, J., Verstraeten, A., De Vries, W., 2024. Responses of forest ecosystems in Europe to decreasing nitrogen deposition, in: *Atmospheric Nitrogen Deposition to Global Forests*. Elsevier, pp. 227–245. doi:10.1016/B978-0-323-91140-5.00017-8
- Shade, A., Peter, H., Allison, S.D., Baho, D., Berga, M., Buergmann, H., Huber, D.H., Langenheder, S., Lennon, J.T., Martiny, J.B., Matulich, K.L., Schmidt, T.M., Handelsman, J., 2012. Fundamentals of Microbial Community Resistance and Resilience. *Frontiers in Microbiology* 3. doi:10.3389/fmicb.2012.00417
- Treseder, K.K., 2004. A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus, and atmospheric CO<sub>2</sub> in field studies. *New Phytologist* 164, 347–355. doi:10.1111/j.1469-8137.2004.01159.x
- van der Heijden, M.G.A., Bardgett, R.D., van Straalen, N.M., 2008. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters* 11, 296–310. doi:10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x
- van der Linde, S., Suz, L.M., Orme, C.D.L., Cox, F., Andreae, H., Asi, E., Atkinson, B., Benham, S., Carroll, C., Cools, N., De Vos, B., Dietrich, H.-P., Eichhorn, J., Gehrmann, J., Grebenc, T., Gweon, H.S., Hansen, K., Jacob, F., Kristöfel, F., Lech, P., Manninger, M., Martin, J., Meesenburg, H., Merilä, P., Nicolas, M., Pavlenda, P., Rautio, P., Schaub, M., Schröck, H.-W., Seidling, W., Šrámek, V., Thimonier, A., Thomsen, I.M., Titeux, H., Vanguelova, E., Verstraeten, A., Vesterdal, L., Waldner, P., Wijk, S., Zhang, Y., Žlindra, D., Bidartondo, M.I., 2018. Environment and host as large-scale controls of ectomycorrhizal fungi. *Nature* 558, 243–248. doi:10.1038/s41586-018-0189-9
- Vetrovský, T., Baldrian, P., Morais, D., 2018. SEED 2: a user-friendly platform for amplicon high-throughput sequencing data analyses. *Bioinformatics (Oxford, England)* 34, 2292–2294. doi:10.1093/bioinformatics/bty071
- Vicente-Serrano, S.M., Beguería, S., López-Moreno, J.I., 2010. A Multiscalar Drought Index Sensitive to Global Warming: The Standardized Precipitation Evapotranspiration Index. *Journal of Climate* 23, 1696–1718. doi:10.1175/2009JCLI2909.1
- Waldner, P., Marchetto, A., Thimonier, A., Schmitt, M., Rogora, M., Granke, O., Mues, V., Hansen, K., Karlsson, G., Žlindra, D., Clarke, N., Verstraeten, A., Lazdiňš, A., Schimming, C.-G., Iacoban, C., Lindroos, A.-J., Vanguelova, E., Benham, S., Meesenburg, H., Lorenz, M., 2014. Detection of temporal trends in atmospheric deposition of inorganic nitrogen and sulphate to forests in Europe. *Atmospheric Environment* 95, 363–374. doi:10.1016/j.atmosenv.2014.06.054
- Weissen, F., Hambuckers, A., Van Praag, H.J., Remacle, J., 1990. A decennial control of N-cycle in the Belgian Ardenne forest ecosystems. *Plant and Soil* 128, 59–66. doi:10.1007/BF00009396
- Žifčáková, L., Větrovský, T., Howe, A., Baldrian, P., 2016. Microbial activity in forest soil reflects the changes in ecosystem properties between summer and winter. *Environmental Microbiology* 18, 288–301. doi:10.1111/1462-2920.13026