



**HAL**  
open science

**Enjeux de la filière thermique du Miscanthus :  
évaluation de l'effet d'une culture de Miscanthus x  
giganteus et de la valorisation agronomique de ses  
cendres, sur la qualité du sol**

Claire Brami

► **To cite this version:**

Claire Brami. Enjeux de la filière thermique du Miscanthus : évaluation de l'effet d'une culture de Miscanthus x giganteus et de la valorisation agronomique de ses cendres, sur la qualité du sol. Science des sols. Agrocampus Ouest, 2020. Français. NNT : 2020NSARB345 . tel-03793800

**HAL Id: tel-03793800**

**<https://theses.hal.science/tel-03793800v1>**

Submitted on 2 Oct 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# THESE DE DOCTORAT DE

*L'institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture,  
l'alimentation et l'environnement*  
Ecole interne AGROCAMPUS OUEST

ECOLE DOCTORALE N° 600  
*Ecole doctorale Ecologie, Géosciences, Agronomie et Alimentation*  
Spécialité : « *Sciences agronomiques* »

Par

**Claire BRAMI**

## **Enjeux de la filière thermique du Miscanthus : évaluation de l'effet d'une culture de *Miscanthus × giganteus* et de la valorisation agronomique de ses cendres, sur la qualité du sol**

**Thèse présentée et soutenue à Agrocampus Ouest Rennes, le 14 décembre 2020**

**Unité de recherche : UMR SAS 1069**

**Thèse N° : n° de série : B-345 et n° d'ordre : 2020-29**

### **Composition du Jury**

#### **Rapporteurs**

Sabine HOUOT  
Manuel BLOUIN

Directrice de Recherche, UMR 1402 ECOSYS, INRAe Thiverval-Grignon,  
Professeur, UMR 1347 Agroécologie, INRAe/CNRS/AgroSup Dijon,

#### **Examineurs**

Christian WALTER  
Isabelle ROYER  
Isabelle Feix

Professeur, UMR 1069 SAS, INRAe/Agrocampus Ouest Rennes,  
Ph.D, Agriculture et Agroalimentaire Canada, Chimie des sols, Québec,  
Experte Nationale « Sol », Direction Bioéconomie et Energies Renouvelables, ADEME,

#### **Direction de thèse**

Safya MENASSERI  
Guénola PERES  
Christopher Nathan LOWE

Maîtresse de conférences, UMR 1069 SAS, INRAe/Agrocampus Ouest Rennes, *Directrice de thèse*  
Maîtresse de conférences, UMR 1069 SAS, INRAe/Agrocampus Ouest Rennes, *Co-encadrante*  
Professeur, University of Central Lancashire (UCLAN), *Co-encadrant*

#### **Invité**

Thierry JACQUET

Paysagiste, Urbaniste - Président de Phytorestore



## *Remerciements*

Je souhaite remercier ma directrice de thèse **Safya Menasseri** pour ses conseils, ses nombreux encouragements et pour m'avoir aidé dans ce travail de « détective » du sol.

Un grand merci à ma co-encadrante de thèse **Guénola Pérès**. Merci pour tout ce que tu m'as transmis ainsi que pour ta patience, ta rigueur et ton écoute.

Many thanks to my supervisor **Chris Lowe** who introduced me to the study of earthworms since my master's degree and who has always been there to help me.

Je souhaite aussi remercier mon co-encadrant entreprise **Thierry Jacquet** pour m'avoir fait confiance et pour avoir permis la réalisation de ce projet.

Un grand merci aux membres de mon comité de suivi de thèse, **Mickaël Hedde**, **Isabelle Lamy** et **Frédérique Cadière** pour leurs nombreux conseils qui ont participé à l'amélioration de ce travail.

Je tiens aussi à remercier **Sabine Houot** et **Manuel Blouin** d'avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse ainsi que pour leurs rapports constructifs. Je remercie aussi **Christian Walter**, **Isabelle Royer** et **Isabelle Feix** d'avoir accepté d'en être les examinateurs.

Je remercie particulièrement mes deux stagiaires **Clémentine Denis** et **Jane Darcy Byers-Woods** sans qui ce travail n'aurait pas pu être aussi riche.

Un grand merci aussi à **Nathalie Cheviron** pour son aide précieuse dans l'étude des activités enzymatiques. Merci de m'avoir initié à la science du sol lors de mon master et d'avoir continué à m'aider dans ce projet de thèse.

Un grand merci à **Jacques Vaillant** pour avoir accepté de fournir ses cendres de *Miscanthus*.

Je remercie aussi toutes les personnes de l'UMR SAS qui ont aidé à la réalisation de ce travail et notamment : **Marc Roucaute**, **Clotilde Blancfene**, **Sylvain Busnot**, **Gaëlle Hamelin**, **Laurence Carteaux**, **Yannick Benard**, **Kevin Levardois**, **Thomas Soldano**. J'ai aussi une profonde reconnaissance pour **Monique Delabuis** pour son aide tout au long de ma thèse. Un énorme merci à **Kevin Hoeffner** pour son aide dans toutes les situations imaginables, et notamment pour tous les blocs de sol décaissés et sans oublier son sens de l'humour intarissable.

Je remercie aussi toutes les personnes de l'UMR SAS d'Agrocampus qui ont contribué à ce que chaque voyage sur place soit un réel plaisir. Merci à toute « l'équipe des précaires » et notamment à **Marine**, **Gustavo**, **Ovidiou**, **Hugo**, **Sebastien**, **Mamad**, **Aymeric**, **Antonin**, **Antoine**, **Sebastian**, **Charlotte**, **Julien**, **Léa**, **Lucie**, **Yosra**, **Céline**. Un énorme merci à **Laurent Strohmenger** pour son soutien dans la dernière

ligne droite et à **Bia** pour son écoute et ses encouragements tout au long de ce projet. Many thanks to **Joana Frazao** for her listening and encouragement and for agreeing to spend a few days at the « bout du monde » in spite of the storm.

Huge thanks to the UCLan team for welcoming me, for your help and your encouragements and particularly thanks to **Gus Glover, Kevin Butt, Peter Bentley, Siobhan Quigg, Jeannette Kister, Tamar Garcia-Sorribes, Pia Euteneuer, Effa Ettah, Martin Lampert, Rober Habashy, and Francis Ashwood.**

Je remercie aussi **Daniel Cluzeau** d'avoir accepté que je passe quelques jours à la station biologique de Paimpont et je remercie particulièrement **Daniel Cylly** pour son aide en statistique ainsi que pour sa patience. Je remercie aussi particulièrement **Sarah Guillaucheu** et **Morgane Hervé** pour leur accueil, leur écoute et leurs encouragements.

Je remercie aussi toute l'équipe de Phytoresource et notamment **Sandrine Savary** pour son aide, ainsi que **Didier Larida** pour avoir eu la patience de répondre à chacune de mes questions et pour son aide dans la réalisation des campagnes de terrain, **Magali Berthou** et toute l'équipe de la Bioferme, **Anthony Baudin, Valérie Farcy** et **Thierry Petit** pour leur accueil. Un grand merci aussi à toute l'équipe de Paris : **Valérie, Blandine, Éponine, Christelle, Jules, Julien, Floriane, Jingjing, Che Chi, David, Oscar, Limin** et **Eugénie.**

Un grand merci aussi à tous les membres du WP2 de BFF pour leur aide et notamment merci à **Chantal Loyce, Pierre Malvoisin, Arnaud Butier, Colin Jury, Elsa Borujerdi, Gaëlle Aubert** et **Malick Ouattara.**

Un grand merci à ma famille et aux amis qui m'ont encouragée et soutenue pendant ces trois années. Un remerciement particulier à **Nedjma** et **Cécile** pour leur relecture !! Un grand merci aux amis et notamment à **Ariane, Clément, Laure, Laetitia, Lisa, Linda, Nizar, Alex, Roxane, Minhee, Dariya, Paulina, Mo, Valdis, Marat...**

Et enfin, je souhaite remercier **Léonard** pour son soutien permanent, pour ses encouragements et pour m'avoir supportée tout au long de cette thèse.



# Table des matières

<b>Introduction générale</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre 1 : Etat des connaissances et problématiques</b>	<b>4</b>
<b>Chapitre 2 : 1<sup>ère</sup> partie – Effet de la culture du <i>Miscanthus × giganteus</i> sur la qualité du sol</b>	<b>30</b>
<b>Chapitre 2.1 : Évaluation multiparamètre de la qualité du sol sous une culture de <i>Miscanthus × giganteus</i> sur des sites marginaux d’Île-de-France</b>	<b>32</b>
<b>Chapitre 2.2 : Évaluation multiparamètre de la qualité du sol des cultures de <i>Miscanthus × giganteus</i>, de blé et d’une zone non cultivée sur un site agricole en Seine-et-Marne</b>	<b>60</b>
<b>Chapitre 3 : 2<sup>ème</sup> partie – Effet des cendres de <i>Miscanthus × giganteus</i> sur la qualité du sol</b>	<b>124</b>
<b>Introduction du chapitre 3</b>	<b>126</b>
<b>Chapitre 3.1 : Effet des cendres de <i>Miscanthus × giganteus</i> sur la survie, les changements de biomasse, la reproduction et le comportement d’évitement de l’espèce lombricienne endogée <i>Aporrectodea caliginosa</i></b>	<b>132</b>
<b>Chapitre 3.2 : Effet des cendres de <i>Miscanthus × giganteus</i> sur le comportement d’évitement de l’espèce lombricienne endogée <i>Aporrectodea caliginosa</i></b>	<b>152</b>
<b>Chapitre 3.3 : Évaluation multiparamètre de l’impact des cendres de <i>Miscanthus × giganteus</i> sur la qualité du sol d’un champ de blé</b>	<b>170</b>
<b>Chapitre 4 : Discussion et conclusion générale</b>	<b>234</b>
<b>Annexes</b>	<b>254</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>276</b>





# Liste des figures

## Figures du chapitre 1

- Figure 1** : Champs de *Miscanthus × giganteus* au mois d'octobre « en vert » (A) et au mois de mars « en sec » (B). **6**
- Figure 2** : Schéma du cycle végétatif du *Miscanthus*. Adapté d'après Strullu (2011). **8**
- Figure 3** : Carte des trois sites d'étude (Chanteloup, Marne et Gondoire et Bioferme) localisés dans la région Île-de-France. **26**
- Figure 4** : Schéma général de la thèse. **27**

## Figures du chapitre 2.1

- Figure 5**: Total earthworm abundance and abundance of earthworm ecological categories (means and standard deviation) at BF (Bioferme), MG (Marne et Gondoire) and CH (Chanteloup) sites. Different letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) in total and ecological category between treatments at the same site. **47**
- Figure 6**: Total earthworm biomass (means and standard deviation) at BF (Bioferme), MG (Marne et Gondoire) and CH (Chanteloup) sites. Different letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between treatments at the same site. **47**

## Figures du chapitre 2.2

- Figure 7** : Photographie du traitement non-cultivé du site de la Bioferme. **66**
- Figure 8** : Chronologie de l'itinéraire agricole au sein des traitements *Miscanthus* (A), non-cultivé (B) et blé (C) de 2013 à 2019. Les interventions mécaniques au niveau du sol sont indiquées en rouge et les apports chimiques sont indiqués en vert. Le détail des interventions n'est représenté qu'à partir du mois d'août 2018, excepté pour le traitement *Miscanthus*. **67**
- Figure 9** : Vue aérienne des trois traitements (*Miscanthus*, non-cultivé et blé) du dispositif expérimental. Les carrés blancs représentent les placettes de 9 m<sup>2</sup>, et leurs numéros associés, dans lesquelles l'échantillonnage a eu lieu. **68**
- Figure 10** : Schéma d'une placette de 9 m<sup>2</sup> et localisation des points d'échantillonnages réalisés en mars 2019 (rouge) et octobre 2019 (bleu). **69**
- Figure 11** : Schéma des analyses effectuées à partir de l'échantillon composite. **69**
- Figure 12** : Moyennes (avec écarts-types) des activités enzymatiques (uréase - A,  $\beta$ -glucosidase - B, arylamidase - C, phosphatase - D, déshydrogénase - E) dans le sol des traitements blé (jaune), *Miscanthus × giganteus* (vert) et non-cultivé (marron) en octobre. Les lettres indiquent les différences significatives entre traitements. **87**
- Figure 13** : A : Abondance relative des quatre catégories écologiques (épigé - bleu, épi-anécique - orange, anécique strict - jaune et endogé - rose) dans les traitements blé, *Miscanthus × giganteus* et non-cultivé en mars et en octobre. B : Abondance (moyenne et écart-type) totale et des catégories écologiques dans les traitements blé, *Miscanthus × giganteus* et non-cultivé en mars et en octobre. Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et les mois. **89**

**Figure 14 :** Biomasse lombricienne totale (moyenne et écart-type) dans les traitements blé (jaune), *Miscanthus × giganteus* (vert) et non-cultivé (marron) en mars et en octobre. Les lettres indiquent les différences significatives entre traitements et mois. **92**

**Figure 15 :** Densité apparente moyenne (avec écart-type) du sol des traitements blé, *Miscanthus × giganteus* et non-cultivé en mars (bleu) et en octobre (orange). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et entre les mois. **94**

**Figure 16 :** Stabilité structurale (avec écart-type) des agrégats de sol après humectation rapide (A) et réhumectation lente (B) en mars (bleu) et en octobre (orange) dans les traitements blé, *Miscanthus × giganteus* et non-cultivé. Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et entre les mois. **96**

**Figure 17 :** Diagrammes en radar des résultats agrégés des cinq catégories de la qualité du sol étudiées, en mars (A) et en octobre (B) dans les traitements blé, *Miscanthus* et non-cultivé. **99**

### Figures du chapitre 3.1

**Figure 18:** Mean ( $\pm$  sd) biomass of *A. caliginosa* in MA (*Miscanthus* ash) treatments (MA0, MA1, MA2.5, MA5, MA10 t ha<sup>-1</sup>) after 0, 28, 56 and 84 days. **143**

**Figure 19:** Mean avoidance rate ( $\pm$  sd) of *A. caliginosa* after 48h in MA (*Miscanthus* ash) treatments (0, 2.5, 5, 10, 25, 50 t ha<sup>-1</sup>). **145**

### Figures du chapitre 3.2

**Figure 20:** Linear gradient mesocosm (0.6 m x 0.13 m x 0.1 m) with nominal MA treatment (t ha<sup>-1</sup>) used in the avoidance test. **160**

**Figure 21:** Circular gradient mesocosm (diam : 0.31 m, depth : 0.125 m) with nominal MA treatment (t ha<sup>-1</sup>) used in the avoidance test. **161**

### Figures chapitre 3.3

**Figure 22 :** Schéma de l'évaluation de la valorisation agronomique des cendres issues de la filière thermique du *Miscanthus × giganteus*. **172**

**Figure 23 :** Descriptif du dispositif expérimental de la parcelle Vieille Maison. Un carré représente une placette de 9 m<sup>2</sup>. Les différents traitements de cendres de *Miscanthus × giganteus* (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) sont indiqués dans les placettes. **175**

**Figure 24 :** Placettes du bloc 4 après épandage des traitements de cendres de *Miscanthus × giganteus* (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) et avant le semis du blé. **176**

**Figure 25 :** Chronologie de l'itinéraire technique de la parcelle Vieille Maison d'août 2018 à octobre 2019. **177**

**Figure 26 :** Placette de 9 m<sup>2</sup> dans laquelle les épandages de cendres de *Miscanthus × giganteus* ont eu lieu et localisation des points d'échantillonnages 5 mois (rouge) et 12 mois (bleu) après l'épandage. Le quadrat central (vert) représente la zone d'échantillonnage du blé en juillet. **178**

**Figure 27 :** Quadrat central de la placette de 9 m<sup>2</sup> dans lequel 3 rangs de blé ont été échantillonnés aléatoirement en juillet 2019. Chaque rang a permis la constitution d'un bouquet de blé (photo). **178**

**Figure 28** : Moyennes (avec écarts-types) des activités enzymatiques (uréase - A,  $\beta$ -glucosidase - B, arylamidase - C, phosphatase – D, déshydrogénase - E) dans le sol d'un champ de blé 12 mois après l'épandage des traitements de cendres de *Miscanthus x giganteus* (0, 1, 2.5, 5 t ha<sup>-1</sup>). Les lettres indiquent les différences significatives entre traitements. **194**

**Figure 29** : Abondance relative totale et abondance des catégories écologiques (épigé, épi-anécique, anécique strict, endogé) 5 et 12 mois après l'apport des traitements de cendres de *Miscanthus x giganteus* (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) sur la parcelle Vieille Maison. **196**

**Figure 30** : Abondance lombricienne totale (moyenne ind m<sup>-2</sup> et écart-type) et abondance des catégories écologiques (épigé, épi-anécique, anécique, endogé ; moyenne ind m<sup>-2</sup>) 5 et 12 mois après l'apport des traitements de cendres de *Miscanthus x giganteus* (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) sur la parcelle Vieille Maison. **197**

**Figure 31** : Biomasse lombricienne (moyenne g m<sup>-2</sup> et écart-type) et biomasse des catégories écologiques (épigé, épi-anécique, anécique, endogé ; moyenne g m<sup>-2</sup>) 5 et 12 mois après l'épandage des traitements de cendres de *Miscanthus x giganteus* (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) sur la parcelle Vieille Maison. **199**

**Figure 32** : Densité apparente moyenne (avec écart-type) du sol de la parcelle Vieille Maison 5 (Mars) et 12 mois (Octobre) après épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus x giganteus*. **202**

**Figure 33** : Stabilité structurale (avec écart-type) des agrégats de sol après humectation rapide (A) et humectation lente (B) 5 (Mars) et 12 mois (Octobre) après l'épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus x giganteus*. Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et entre les mois. **203**

**Figure 34** : Diagrammes en radar des résultats agrégés des cinq catégories de la qualité du sol étudiées, cinq mois (A - mars) et 12 mois (B - octobre), après l'épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus x giganteus*. **206**

**Figure 35** : Schéma conceptuel des effets bénéfiques des cendres sur la qualité du sol. **231**

## Figures annexes

**Figure 36** : Position du site de la Bioferme, carte géologique du BRGM (source : [www.infoterre.brgm.fr](http://www.infoterre.brgm.fr)) **255**

**Figure 37** : Diagramme ombrothermique de janvier 2017 à décembre 2017 sur la station de Melun située à 35 km de la Bioferme (source : Météo France) **256**

**Figure 38** : Position du site de Marne & Gondoire, carte géologique du BRGM (source : [www.infoterre.brgm.fr](http://www.infoterre.brgm.fr)) **257**

**Figure 39** : Diagramme ombrothermique de janvier 2017 à décembre 2017 sur la station de Roissy-en-France située à 20 km de Marne & Gondoire (source : Météo France) **258**

**Figure 40** : Position du site de Chanteloup, carte géologique du BRGM (source : [www.infoterre.brgm.fr](http://www.infoterre.brgm.fr)) **259**

**Figure 41** : Diagramme ombrothermique de janvier 2017 à décembre 2017 sur la station de Pontoise située à 10 km du site de Chanteloup (source : Météo France). **260**

**Figure 42** : Matrice des corrélations de l'ensemble du jeu de données du mois de mars et du rendement en blé du mois de juillet. **265**

**Figure 43** : Matrice des corrélations de l'ensemble du jeu de données du mois d'octobre (12 mois après l'épandage) et du rendement en blé du mois de juillet. **266**

# Liste des tableaux

## Tableaux du chapitre 2.1

**Table 1:** GPS coordinates, elevation (m), annual 30-year average rainfall, soil type, soil texture, clay, silt, sand, organic C content ( $C_{org}$ ) and pH from 2013 at BF (Bioferme), MG (Marne et Gondoire) and CH (Chanteloup) sites. **38**

**Table 2:** Soil quality indicators (mean  $\pm$  standard deviation) of BF (Bioferme), MG (Marne et Gondoire) and CH (Chanteloup) sites. Superscript letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between undisturbed meadow and *Miscanthus* treatments. **43**

**Table 3:** Total, available and mobility factor (means  $\pm$  standard deviation) of trace metal element (MTE) content (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn) under *Miscanthus* treatment at Bioferme (BF) and undisturbed meadow and *Miscanthus* treatments Marne et Gondoire (MG) and Chanteloup (CH) sites and reference values in Île-de-France. Superscript letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between undisturbed meadow and *Miscanthus* treatments. **44**

**Table 4:** P-values (undisturbed meadow vs *Miscanthus*) of chemical, biological and physical parameters at MG (Marne & Gondoire) and CH (Chanteloup) sites. Significant effects ( $p < 0.05$ ) are given in bold. MTE: metal trace element. **49**

## Tableaux du chapitre 2.2

**Tableau 5 :** Courbes de réponse, valeurs optimales et valeurs minimales et maximales des indicateurs sélectionnés pour les composantes biologique et agronomique. **77**

**Tableau 6 :** Courbes de réponse et valeur optimale des indicateurs sélectionnés pour les catégories ETM totaux, ETM disponibles et composante physique. **78**

**Tableau 7 :** Indicateur de fertilité du sol (moyenne  $\pm$  écart-type) des traitements blé, *Miscanthus*  $\times$  *giganteus* et non-cultivé en mars et en octobre. Les lettres en exposant indiquent les différences significatives pour un élément (par ligne) entre les traitements et les mois. **80**

**Tableau 8 :** Concentration en éléments traces métalliques totaux (moyenne  $\pm$  écart-type) des traitements blé, *Miscanthus*  $\times$  *giganteus* et non-cultivé en mars et en octobre. Les lettres en exposant indiquent les différences significatives pour un élément (par ligne) entre les traitements et les mois. **83**

**Tableau 9 :** Concentration en éléments traces métalliques et facteur de mobilité des traitements blé, *Miscanthus* et non-cultivé en mars et en octobre. **84**

**Tableau 10 :** Moyennes (avec écart-types) de la biomasse microbienne et du ratio  $C_{mic}/C_{org}$  dans le sol des traitements blé, *Miscanthus*  $\times$  *giganteus* et non-cultivé. Les lettres en exposant indiquent les différences significatives par ligne entre les traitements et les mois. **85**

**Tableau 11 :** Abondance des catégories écologiques et biomasse totale, indice d'équitabilité, indice de Shannon et richesse spécifique des communautés lombriciennes dans les traitements blé, *Miscanthus*  $\times$  *giganteus* et non-cultivé en mars et en octobre. **93**

**Tableau 12 :** Abondance moyenne des espèces ( $\pm$  écart-type) dans les traitements blé, *Miscanthus*  $\times$  *giganteus* et non-cultivé en mars et en octobre. **93**

**Tableau 13 :** Résultats agrégés des cinq catégories de la qualité du sol étudiées en mars et en octobre dans les traitements blé, *Miscanthus* et non-cultivé. **98**

## Tableaux du chapitre 3.1

**Table 14:** Physico-chemical characteristics of *Miscanthus* ash and Kettering Loam used in the experiments. **140**

**Table 15:** *A. caliginosa* cocoon production and reproduction rate in the MA (*Miscanthus ash*) treatments (0, 1, 2.5, 5, 10, 25 t ha<sup>-1</sup>) after 56 days (mean ± sd). **144**

## Tableaux du chapitre 3.2

**Table 16:** Soil pH and moisture content (± standard deviation) of the 5 MA treatments (0, 1, 2.5, 5 and 10 t ha<sup>-1</sup>) at day 0 and 14. **162**

**Table 17:** *A. caliginosa* retrieval rates (%) and mean change in biomass (%; ± standard deviation) from MA treatments in linear and circular devices. **164**

## Tableaux du chapitre 3.3

**Tableau 18 :** Concentration en principaux éléments dans la cendre de *Miscanthus × giganteus* épandue sur la parcelle Vieille Maison de la Bioferme. **173**

**Tableau 19 :** Concentration en éléments traces métalliques dans la cendre de *Miscanthus × giganteus* épandue sur la parcelle Vieille Maison de la Bioferme. **174**

**Tableau 20 :** Courbes de réponse des indicateurs des composantes biologique et agronomique et valeurs minimales et maximales de chaque indicateur cinq mois (mars) et douze mois (octobre) après l'épandage des traitements de cendres de *Miscanthus*. **184**

**Tableau 21 :** Courbes de réponse des indicateurs des ETM totaux et disponibles et de la composante physique et valeurs minimales et maximales de chaque indicateur cinq mois (mars) et douze mois (octobre) après l'épandage des traitements de cendres de *Miscanthus*. **185**

**Tableau 22 :** Concentration dans le sol 5 mois (Mars) et 12 mois (Octobre) après l'épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus × giganteus* sur la parcelle Vieille Maison. Les lettres en exposant indiquent les différences significatives pour un élément (par ligne) entre les traitements et les mois. **188**

**Tableau 23 :** Concentrations moyennes (avec écart-types) en éléments traces métalliques totales du sol 5 mois (Mars) et 12 mois (Octobre) après l'épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus × giganteus* sur la parcelle Vieille Maison. Les lettres en exposant indiquent les différences significatives pour un élément (par ligne) entre les traitements et les mois. **189**

**Tableau 24 :** Concentrations moyennes (avec écart-types) en éléments traces métalliques disponibles et facteurs de mobilité des métaux du sol 5 mois (Mars) et 12 mois (Octobre) après l'épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus × giganteus* sur la parcelle Vieille Maison. Les lettres en exposant indiquent les différences significatives pour un élément (par ligne) entre les traitements et les mois. **190**

**Tableau 25 :** Moyennes (avec écarts-types) de la biomasse microbienne et du ratio C<sub>mic</sub>/C<sub>org</sub> dans le sol, 5 (Mars) et 12 mois (Octobre) après l'épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus × giganteus* sur la parcelle Vieille Maison. Les lettres en exposant indiquent les différences significatives par ligne entre les traitements et les mois. **192**

**Tableau 26 :** Abondance totale et abondance des catégories fonctionnelles, biomasse totale, indice d'équitabilité, indice de Shannon et richesse spécifique des communautés lombriciennes (± écarts-types) 5 (Mars) et 12 mois (Octobre) après l'épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus × giganteus* sur la parcelle Vieille Maison. **200**

**Tableau 27 :** Abondance moyenne des espèces (± écart-type) 5 (Mars) et 12 mois (Octobre) après l'épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus × giganteus* sur la parcelle Vieille Maison. **201**

**Tableau 28 :** Résultats agrégés des cinq catégories de la qualité du sol étudiées, 5 mois (mars) et 12 mois (octobre), après l'épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus × giganteus*. **205**

**Tableau 29** : Paramètres agronomiques ( $\pm$  écart-type) du blé d'hiver mesurés à maturité selon les différents traitements d'épandage de cendres de *Miscanthus x giganteus* (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>). **207**

**Tableau 30** : Comparaison des teneurs en phosphore, potassium et cadmium des cendres de *Miscanthus x giganteus* utilisées dans cette étude avec des cendres issues de biomasses ligneuses d'origines différentes. **212**

## Tableaux des annexes

**Table 31** : Mean abundance of species under undisturbed meadow and *Miscanthus* treatments at Bioferme (BF), Marne et Gondoire (MG) and Chanteloup (CH) sites. **261**

**Tableau 32**: Scores des indicateurs et sommes des scores (Total) par individu (placette) de la composante agronomique et des métaux échangeables du chapitre 2.2. **262**

**Tableau 33**: Scores des indicateurs et sommes des scores (Total) par individu (placette) des métaux totaux du chapitre 2.2. **263**

**Tableau 34** : Scores des indicateurs et sommes des scores (Total) par individu (placette) des composantes physique et biologique du chapitre 2.2. **264**

**Tableau 35** : Composition des produits apportés au moment de la culture de blé entre octobre 2018 et juillet 2019. **267**

**Tableau 36** : Scores des indicateurs et sommes des scores (Total) par individu (placette) de la composante agronomique et des métaux échangeables du mois de mars (chapitre 3.3). **268**

**Tableau 37** : Scores des indicateurs et sommes des scores (Total) par individu (placette) de la composante agronomique et des métaux échangeables du mois d'octobre (chapitre 3.3). **269**

**Tableau 38** : Scores des indicateurs et sommes des scores (Total) par individu (placette) des métaux totaux du mois de mars (chapitre 3.3). **270**

**Tableau 39** : Scores des indicateurs et sommes des scores (Total) par individu (placette) des métaux totaux du mois d'octobre (chapitre 3.3). **271**

**Tableau 40** : Scores des indicateurs et sommes des scores (Total) par individu (placette) des composantes physique et biologique du mois de mars (5 mois après l'épandage des cendres de *Miscanthus*, chapitre 3.3). **272**

**Tableau 41** : Scores des indicateurs et sommes des scores (Total) par individu (placette) des composantes physique et biologique du mois d'octobre (12 mois après l'épandage des cendres de *Miscanthus*, chapitre 3.3). **273**





# Introduction générale

---

Dans un contexte de besoins croissants en énergie, associés à l'augmentation de la population mondiale, ainsi que le changement climatique, lié à l'utilisation d'énergie fossile, l'Europe est contrainte de se fixer pour objectif l'augmentation de la part des énergies renouvelables à 32% dans sa consommation énergétique d'ici à 2030 (Ciucci, 2020). La réduction de la dépendance croissante vis-à-vis des importations d'énergie en provenance de pays tiers passe par le développement des ressources énergétiques locales (Ciucci, 2020). Le développement des cultures énergétiques, telles que le *Miscanthus × giganteus* (ci-après appelé Miscanthus) est une des voies privilégiées. Cependant, l'utilisation de surfaces agricoles dédiées aux denrées alimentaires pour la production de Miscanthus conduirait à un accroissement de leurs prix à l'échelle mondiale (Cheneval et al., 2011). Le développement des cultures énergétiques sur des terres marginales a été proposé afin d'éviter cette concurrence avec les cultures alimentaires vis-à-vis de l'utilisation du sol, de l'eau et d'autres ressources naturelles (Miyake et al., 2012). En raison de sa production de biomasse importante, de ses faibles exigences en intrants (Lewandowski et al., 2000) et de sa capacité à se développer sur des sites contaminés, (Nsanganwimana et al., 2014) la culture du Miscanthus sur des surfaces dites marginales devrait augmenter dans le futur (Lewandowski et al., 2016). Cependant, bien qu'ils ne soient pas intéressants sur le plan économique, les sites marginaux peuvent constituer d'importantes réserves de biodiversité qui pourraient être menacées par l'implantation de cultures énergétiques (Dauber et al., 2010, Dauber and Miyake, 2016). Certains auteurs suggèrent donc plutôt le développement de cultures énergétiques sur des zones agricoles (Dauber and Miyake, 2016), sachant que des travaux ont mis en évidence l'intérêt de la culture du Miscanthus pour la biodiversité et la structure du sol par comparaison avec des cultures annuelles (Felten and Emmerling, 2011, Semere and Slater, 2007, Ruf et al., 2018b, Bellamy et al., 2009, Das et al., 2016). Ces travaux ont d'ailleurs conduit l'Union Européenne à rendre éligible la culture du Miscanthus aux subventions des Surfaces d'Intérêt Ecologique (SIE) en zone agricole (Fradj et al., 2020). Il est donc nécessaire de s'assurer que la culture du Miscanthus ne nuit pas à la qualité du sol au sein des nombreux types de sites sur lesquels elle pourrait être cultivée, depuis le site marginal contaminé jusqu'à la terre arable. En effet, le sol est une ressource non renouvelable permettant la fourniture de services écosystémiques (Stolte et al., 2015) dont la qualité a été définie comme sa capacité à fonctionner (Doran and Parkin, 1994). De nombreuses études ont mis en évidence la nécessité d'évaluer les composantes chimiques, physiques et biologiques afin d'en effectuer une évaluation robuste (Bünemann et al., 2018). Cependant, bien qu'ils soient sous-représentés dans la littérature, l'utilisation d'indicateurs biologiques, tels que les

## Introduction générale

lombriciens ou les micro-organismes, est particulièrement recommandée (Bünemann et al., 2018, Kibblewhite et al., 2008a).

La culture du *Miscanthus*, qui concernait 4 000 ha en France et 20 000 hectares en Europe en 2018, est principalement utilisée pour la production d'énergie via la combustion (Lewandowski et al., 2018a). Cette production d'énergie conduit à la formation d'un déchet : la cendre. La production annuelle de cendres de *Miscanthus* est comprise entre 4 000 et 17 500 tonnes par an en Europe (calcul interne), ce qui est relativement faible au regard des 1 500 – 4 000 kilotonnes de cendres qui ont été produites en Europe en 2016 toutes biomasses confondues (Boulday and Marcovecchio, 2016b), mais cela pourrait augmenter dans les années à venir. En Europe, bien que les réglementations diffèrent d'un pays à l'autre, la cendre de biomasse est principalement envoyée en centre d'enfouissement (Boulday and Marcovecchio, 2016b), ce qui est contraignant et coûteux. En raison de ses teneurs en phosphore, potassium et autres nutriments et de ses propriétés neutralisantes, elle pourrait être valorisée agronomiquement (Demeyer et al., 2001, Cruz-Paredes et al., 2017a, Silva et al., 2019). La valorisation des cendres de la filière thermique du *Miscanthus*, notamment par un retour au sol, contribuerait à la durabilité de la filière. Cependant, bien que des travaux relatifs à l'effet des cendres de biomasse sur quelques propriétés du sol ainsi que sur le rendement des cultures aient été effectués (Demeyer et al., 2001, Augusto et al., 2008, Huotari et al., 2015), très peu étudient l'effet des cendres de biomasse sur les organismes du sol (Silva et al., 2019) et aucun n'évalue l'effet des cendres sur les composantes chimique, biologique et physique en prenant en compte l'ensemble de ces composantes. En outre, bien que des travaux aient été menés sur l'effet des biochars de *Miscanthus*, à notre connaissance aucune étude n'évalue l'influence des cendres de *Miscanthus* sur la qualité du sol.

Cette thèse, qui s'inscrit dans le projet de recherche Biomasse For the Future (BFF, Projet ANR 11-BTBR-0006), a donc pour objectif d'évaluer la durabilité agro-environnementale de la filière thermique du *Miscanthus*. La qualité du sol est au centre de cette évaluation avec une importance particulière donnée aux communautés lombriciennes.



# Chapitre 1

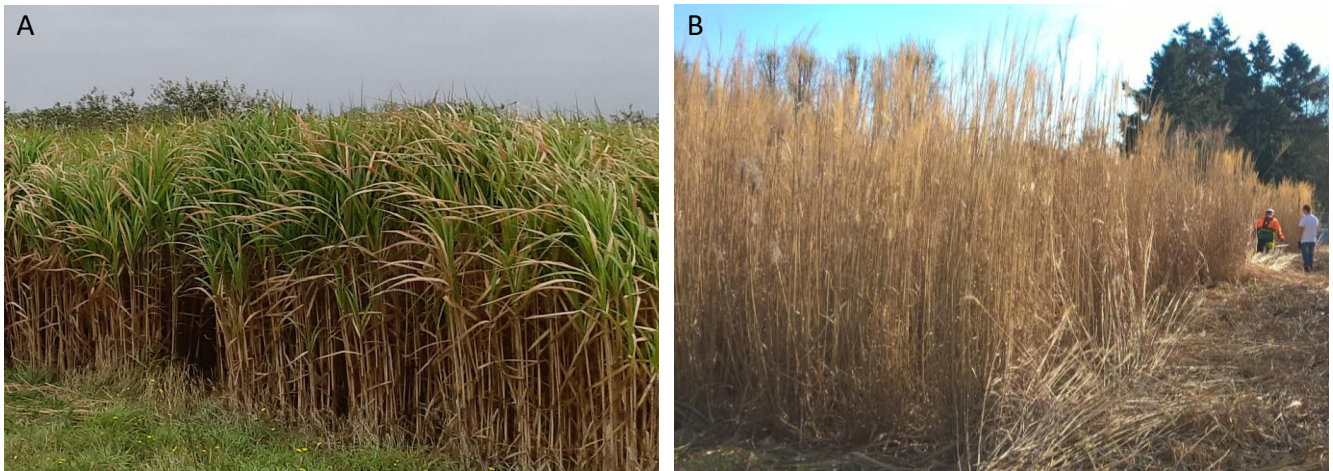
## État des connaissances et problématiques



# 1. La filière Miscanthus

## 1.2 La culture du Miscanthus

Le Miscanthus est une plante pérenne originaire d'Asie apparentée à la canne à sucre et au sorgho (Greef and Deuter, 1993, Lewandowski et al., 2018b). Elle fait partie de la famille des graminées (*Poaceae*) et de la tribu des *Andropogoneae* et est constituée d'une vingtaine d'espèces (Hodkinson et al., 2002). Elle a été introduite en Europe au milieu du 20<sup>ème</sup> siècle initialement comme plante ornementale (Lewandowski et al., 2003) et les premières études concernant son utilisation pour la production d'énergie ont eu lieu au Danemark dans les années 1960 avec l'espèce *Miscanthus × giganteus* (Venendaal et al., 1997). La surface cultivée en Miscanthus dans le monde était de 123 000 ha en 2018 dont 100 000 ha de *Miscanthus lutarioriparius* en Chine (Lewandowski et al., 2018b). L'Europe comptait 20 000 ha de Miscanthus en 2018 (principalement du *M. × giganteus*) dont 4 000 ha en France (Lewandowski et al., 2018b).



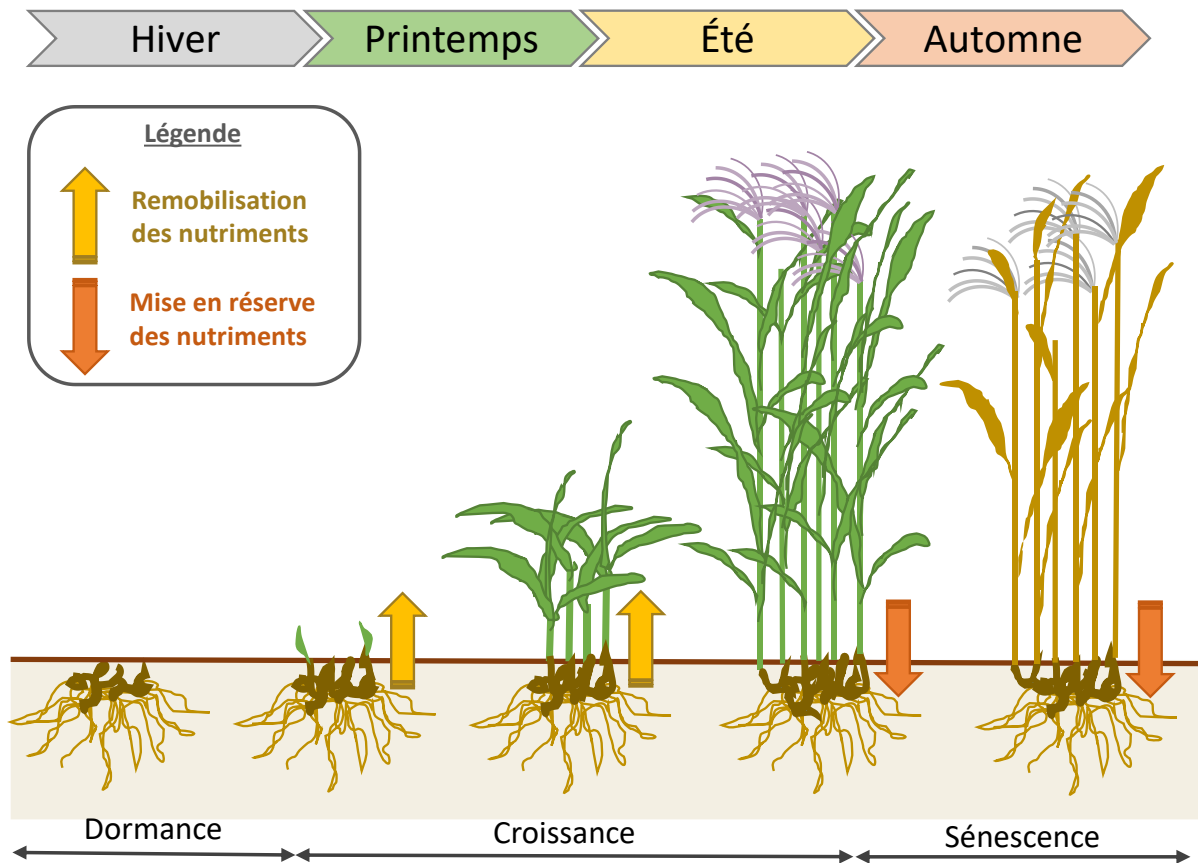
**Figure 1** : Champs de *Miscanthus × giganteus* au mois d'octobre « en vert » (A) et au mois de mars « en sec » (B).

L'espèce *M. × giganteus* (figure 1) est issue du croisement entre *Miscanthus sinensis* (tétraploïde) et *Miscanthus sacchariflorus* (diploïde) (Greef and Deuter, 1993). Le *M. × giganteus* (appelé Miscanthus ci-après) est donc un triploïde stérile et non invasif (Heaton et al., 2010) qui se propage de manière végétative par bouturage de rhizome ou par micropropagation, ce qui rend son coût d'implantation relativement élevé par rapport à des cultures implantées avec des graines (Clifton-Brown et al., 2001). En effet, le coût d'implantation du Miscanthus varie de 1900 à 6 000 euros ha<sup>-1</sup>

## Chapitre 1

pour l'implantation par rhizome et par micropropagation respectivement (Lewandowski et al., 2018b). D'après Xue et al. (2015), en Europe la procédure la plus utilisée actuellement, et qui est considérée comme optimale pour la production de biomasse, consiste à planter des boutures de rhizomes sous serre au mois de mars avant de les planter au champ au mois de mai. Une planteuse à pommes de terre permet de positionner les rhizomes à une profondeur comprise entre 10 et 20 cm après un labour du sol (Xue et al., 2015). La densité des boutures est généralement comprise entre 16 000 et 20 000 boutures ha<sup>-1</sup> (Xue et al., 2015). Le *Miscanthus* met 3 à 5 ans avant de s'établir et d'atteindre son plateau de rendement (Lewandowski et al., 2003). En tant que plante pérenne, sa récolte est reconductible chaque année pendant plus de 20 ans (Lewandowski et al., 2003).

Le cycle végétatif du *Miscanthus* (figure 2) est caractérisé par une phase de croissance qui démarre chaque année au début du printemps par bourgeonnement du rhizome dans lequel les nutriments sont stockés (Greef and Deuter, 1993, Strullu, 2011). Les nutriments du rhizome sont mobilisés par translocation dans la partie aérienne de la plante pendant la phase de croissance qui s'achève en fin d'été au moment de la floraison (Strullu, 2011). En fin de croissance, les tiges peuvent avoir une hauteur de plus de trois mètres (Técher, 2011). Le *Miscanthus* rentre dans la phase de sénescence en fin d'été et il en sort à la fin de l'hiver (Strullu, 2011). Pendant cette phase, les feuilles tombent et les nutriments redescendent dans le rhizome (Strullu, 2011).



**Figure 2** : Schéma du cycle végétatif du Miscanthus. Adapté d'après Strullu (2011).

Son métabolisme en C4 permet la réalisation d'une photosynthèse très efficace favorisant une production de biomasse importante (Lewandowski et al., 2000, Greef et al., 1997). D'après Lewandowski et al (2018b), trois mécanismes permettent d'expliquer l'efficacité d'utilisation des nutriments : (1) de faibles besoins en intrants, (2) le recyclage des nutriments via la chute des feuilles en hiver et (3) la translocation des nutriments de la partie aérienne de la plante vers le rhizome. En plus d'utiliser efficacement les nutriments, la présence de bactéries endophytes permettraient au Miscanthus de fixer l'azote (Cope-Selby et al., 2017). L'apport de fertilisant n'améliore donc pas nécessairement les rendements en Miscanthus qui dépendent surtout du climat, du type de sol et de sa gestion agronomique (Heaton et al., 2010). Ainsi, si pour une récolte en mars sur un sol sableux avec peu de matière organique, Lewandowski et al. (2018b) recommandent un apport de 50 kg ha<sup>-1</sup> d'azote par an, aucun apport n'est recommandé sur des sols riches en matière organique. Les auteurs rappellent aussi que l'apport de fertilisant doit être basé sur des calculs visant à compenser l'exportation d'éléments nutritifs par la biomasse récoltée (Lewandowski et al., 2018b).

Le Miscanthus est relativement résistant aux ravageurs, ce qui conduit à une très faible utilisation de pesticides (Lewandowski et al., 2000). Cependant, afin d'assurer le succès de



l'implantation, un contrôle des adventices est nécessaire pendant les deux premières années de culture et il peut s'effectuer mécaniquement ou avec des herbicides (Heaton et al., 2010). Ce contrôle n'est généralement plus nécessaire après les deux premières années de culture en raison de la chute des feuilles formant une litière en surface du sol et réduisant ainsi la présence des adventices (Lewandowski et al., 2000). Certains stress abiotiques peuvent cependant nuire à son développement. En effet, le *Miscanthus* est sensible au gel pendant la première année de son implantation (Lewandowski et al., 2000) et la sécheresse a un effet délétère sur son rendement (Clifton-Brown and Lewandowski, 2000, Lewandowski et al., 2016).

Le rendement du *Miscanthus* varie en fonction de la période de l'année pendant laquelle il est récolté. La plante peut être récoltée « en vert » (figure 1.A) à l'automne (entre octobre et décembre), avec un rendement compris entre 25 et 28 t ha<sup>-1</sup> en Europe (Lewandowski et al., 2016), ou « en sec » (figure 1.B) à la fin de l'hiver (de février à avril) où son rendement est compris entre 10 et 30 t ha<sup>-1</sup> en Europe (Fradj et al., 2020). Le choix de la période de récolte varie en fonction de l'utilisation de la biomasse. Par ailleurs, la période de récolte influence la quantité de nutriments extraits du champ avec un effet à court terme sur la qualité de combustion de la plante et un impact à long terme sur la durabilité de la culture (Heaton et al., 2010). Ainsi les dates de récolte dépendent de la valorisation envisagée : combustion ou méthanisation. En effet, la connaissance de la répartition des flux de nutriments entre la partie aérienne et la partie souterraine de la plante permet d'optimiser la période de récolte en fonction de l'utilisation de la biomasse. Alors qu'une récolte précoce en octobre est plus favorable au processus de méthanisation qu'une récolte tardive en fin d'hiver, en raison des teneurs en eau et en nutriments dans la biomasse relativement élevées, cette teneur en eau ainsi que la composition chimique de la biomasse à cette période de l'année ne conviennent pas pour la combustion (Fradj et al., 2020). Il semble ainsi qu'une récolte en fin d'hiver soit optimale pour le processus de combustion (Lewandowski et al., 2018b). En effet, la translocation des nutriments dans le rhizome en fin d'hiver améliore la qualité de combustion notamment en réduisant les teneurs en chlore, potassium et azote de la biomasse récoltée (Lewandowski et al., 2000, Heaton et al., 2010, Baxter et al., 2014). La présence de chlore dans la biomasse n'est pas souhaitable car elle conduit à la production de chlorure d'hydrogène qui est corrosif pour les chaudières (Lewandowski and Heinz, 2003). De plus, le chlore favorise aussi l'émission de dioxine (Lewandowski and Heinz, 2003). En outre, la diminution de la teneur en azote de la biomasse et la faible quantité de cendres produites en fin d'hiver réduiraient l'encrassage des chaudières par comparaison avec de la biomasse récoltée en automne (Baxter et al., 2014). La faible teneur en azote des tiges du *Miscanthus* leur permettrait d'ailleurs d'avoir une meilleure qualité de combustion que les feuilles (Baxter et al., 2014). De plus, une récolte tardive laisse le temps à la biomasse de sécher et d'avoir une teneur en eau inférieure à

15% (Lewandowski et al., 2018b), ce qui réduit les coûts de séchage, sachant que pour une combustion optimale l'humidité de la biomasse ne doit pas dépasser 30% (Lewandowski and Heinz, 2003). Cependant, en raison de la chute des feuilles, une récolte trop tardive réduit aussi le rendement, diminuant ainsi l'intérêt économique (Lewandowski et al., 2016). Il est donc nécessaire de trouver un compromis entre la qualité et la quantité de la biomasse produite et, pour un usage en combustion, une récolte au mois de mars semble être optimale en Europe (Lewandowski et al., 2018b). En outre, bien que la période de récolte soit le principal levier permettant d'influer sur la composition de la biomasse récoltée, le type de site sur lequel le Miscanthus se développe ainsi que l'apport d'intrants ont aussi une influence sur sa composition.

### 1.3 La valorisation énergétique du Miscanthus

Si une fois récoltée, la biomasse de Miscanthus peut être utilisée pour la production de papier, de matériaux de construction, litière pour animaux, paillage en horticulture ou pour la production de bioplastique, il n'en demeure pas moins que la principale utilisation qui en est faite en Europe concerne la production d'énergie (Lewandowski et al., 2016, Lewandowski et al., 2018a). Les trois principales technologies permettant la production d'énergie à partir de la biomasse de Miscanthus sont :

1. **La production de biogaz** : pour le moment, la production de biogaz à partir du Miscanthus est encore à l'état de recherche afin d'optimiser la période de récolte, notamment lorsqu'il est récolté « en vert » à l'automne (Kiesel and Lewandowski, 2017), ou afin de mettre en place des prétraitements permettant d'améliorer le processus de méthanisation lorsqu'il est récolté à la fin de l'hiver (Thomas et al., 2018, Moiceanu et al., 2016).
2. **La production de biocarburants** : comme pour le biogaz, l'utilisation de la biomasse de Miscanthus pour la production de biocarburant est encore au stade exploratoire sachant que la biomasse lignocellulosique du Miscanthus pourrait être utilisée pour la production de biocarburant de seconde génération (Van der Weijde et al., 2017, Kärcher et al., 2015).
3. **Le processus de combustion** : ce processus permet la production de chaleur et/ou d'électricité et c'est celui qui est le plus courant et le plus développé (Lewandowski et al., 2018b).

Par ailleurs, le processus de pyrolyse est une étape préalable à la combustion et à la gazéification en condition pauvre en oxygène et à des températures comprises entre 300 et 700°C (Fradj et al., 2020). Ce processus aboutit à la production de biochar, de bio-huile (utilisable pour la production d'électricité) et de gaz de synthèse (Dahmen et al., 2019, Rogers and Brammer, 2012). Cependant, en dépit de son

intérêt pour la production d'énergie, le processus de pyrolyse reste marginal en raison de sa complexité technologique et de son coût important (Fradj et al., 2020).

Outre une production de biomasse élevée, la biomasse de Miscanthus a une teneur en énergie importante qui est supérieure à celle de nombreuses cultures céréalières dont les résidus de culture sont utilisés en combustion (Heaton et al., 2004). De plus, la teneur en énergie de la biomasse de Miscanthus est similaire à celle du bois (environ  $17 \text{ MJ t}^{-1}$  (méga joule par tonne)) (Witzel and Finger, 2016). Cependant, comme vu ci-dessus, certaines propriétés de sa biomasse ont une influence négative sur le processus de combustion et peuvent ralentir le développement de la filière. Il s'agit notamment de la teneur en potassium relativement élevée dans le Miscanthus qui diminue le point de fusion de la cendre à  $900^\circ\text{C}$ , ainsi que la présence de silice, favorisant la production de résidus solides appelés mâchefers (Heaton et al., 2004, Iqbal and Lewandowski, 2016, Kaknics et al., 2016). La présence de chlore, de soufre et de métaux conduit aussi à la production de composés qui endommagent les chaudières via l'encrassement et la corrosion (Baxter et al., 2014). Pour toutes ces raisons, lorsqu'elle n'est pas utilisée en mélange avec d'autres combustibles, la biomasse de Miscanthus n'est généralement pas adaptée aux chaudières à bois classiques dont la température de fusion minimum est généralement de  $1200^\circ\text{C}$  (Lewandowski et al., 2018b). Cependant, certains constructeurs ont développé des chaudières adaptées aux températures de fusion basses de la biomasse de Miscanthus. C'est par exemple le cas des chaudières à combustion en lit fluidisé (Lewandowski et al., 2018b). Ces technologies permettent notamment au Miscanthus d'être utilisé en France à différentes échelles, en partant de l'habitat individuel, avec des chaudières d'une puissance de 35 kW, jusqu'aux bâtiments publics et habitations avec des chaudières de 400 kW (France Miscanthus, 2014). Certaines communes utilisent aussi le Miscanthus en association avec d'autres combustibles tels que le bois ; c'est le cas de la chaudière de la ville de Montereau-Fault-Yonne (Seine-et-Marne) qui a une puissance de 6 000 kW. Il en découle un déchet : la cendre, dont la production annuelle serait comprise entre 4 000 et 17 000 tonnes en Europe (calcul des auteurs).

### 1.4 Les cendres

S'inscrivant dans les objectifs de l'Union Européenne visant à réduire la dépendance aux énergies fossiles (Commission Européenne, 2016), la filière de combustion du Miscanthus pourrait se développer dans les années à venir, entraînant une augmentation de la production de cendres. Le taux de cendres du Miscanthus est compris entre 2 et 3.5% (European Biomass Association, 2017), ce qui est inférieur à la valeur maximale de 6% indiquée dans la norme encadrant les biocombustibles solides

(ISO 17225-6, 2014). Alors que les caractéristiques des cendres issues de résidus forestiers ont été largement étudiées (Demeyer et al., 2001, Augusto et al., 2008, Maschowski et al., 2019), la composition des cendres de *Miscanthus* n'a été étudiée que par quelques auteurs (Baxter et al., 2012, Lanzerstorfer, 2017, Michel et al., 2012) ce qui est insuffisant pour les caractériser. Ceci est d'autant plus vrai que les constituants des cendres de *Miscanthus* dépendent des composants de la biomasse qui, eux-mêmes varient en fonction de la période de récolte et des caractéristiques du sol sur lequel la plante s'est développée (Lewandowski et al., 2003, Baxter et al., 2014, Strullu, 2011). Ainsi, Lanzerstorfer (2017) observe des différences de concentration en potassium, chlore et soufre dans des cendres de *Miscanthus* issues de plantes cultivées sur des sites différents. De plus, des travaux ont mis en évidence que la quantité de cendres du *Miscanthus* augmente avec la teneur en limon et argile du sol (Lewandowski et al., 2003) ainsi qu'avec la fertilisation azotée (Baxter et al., 2014). Le type de plante joue aussi un rôle majeur : si certains auteurs n'enregistrent pas de différence concernant la teneur en éléments traces métalliques (ETM) entre les cendres de bois et les cendres de *Miscanthus* (Lanzerstorfer, 2017), des travaux mettent en évidence que les cendres de *Miscanthus* auraient des teneurs en ETM inférieures à celles des cendres de bois (Scurlock, 1999). De la même manière, de nombreuses études ont été effectuées concernant les cendres de charbon, mais des travaux ont souligné que leur composition chimique était significativement différente des cendres de biomasse, notamment la teneur en carbone ainsi que la distribution de la taille des particules (Jaworek et al., 2013, Yeboah et al., 2014). En raison de ces différences importantes, le choix a été fait de ne pas discuter, dans la mesure du possible, les résultats obtenus dans cette étude avec ceux provenant d'essais utilisant des cendres de charbon.

Par ailleurs, pour un même combustible utilisé, il existe deux types de cendres : (1) les cendres sous grille (ou sous foyer) localisées dans le cendrier et qui représentent entre 60% et 90% de la masse totale des cendres produites, et (2) les cendres volantes localisées dans le système de traitement des fumées (Agrela et al., 2019). Les cendres sous foyer sont constituées de particules grossières par comparaison avec les cendres volantes qui sont plus fines (Agrela et al., 2019) et contiennent plus de nutriments (Silva et al., 2019) mais aussi plus d'ETM (Oberberger et al., 2006).

### 1.5 L'utilisation des cendres

Les cendres de biomasse ont actuellement un statut de déchets (Commission Européenne, 2000) et sont donc principalement envoyées en centre d'enfouissement (Boulday and Marcovecchio, 2016a). En outre, il n'existe pas de législation harmonisée à l'échelle européenne concernant l'utilisation des

## Chapitre 1

cendres en agriculture (Silva et al., 2019). En France, le retour au sol des cendres n'est généralement pas encadré par les quatre normes relatives à l'utilisation de produits fertilisants. En effet :

- La norme *Engrais* NF U 42-001, impose des teneurs minimales en phosphore ( $P_2O_5 > 2\%$ ) et en potassium ( $K_2O > 5\%$ ) que les cendres ne peuvent atteindre d'après l'ADEME (2016),
- La norme *Amendement organique* NF U 44-051 (2006), n'autorise pas l'utilisation des cendres de combustion (ADEME, 2016),
- La norme *Amendement minéraux basiques* NF U 44-001 (2017), impose des teneurs en carbonate de calcium et/ou magnésium supérieures à 60% et n'autorise pas l'utilisation des cendres de combustion (Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et des Transports, 2012).
- La norme *Compost de boues* NF U 44-095 (2002) encadre les composts contenant des matières d'intérêt agronomique issues du traitement des eaux. D'après Boulday et Marcovecchio (2016b), les cendres pourraient théoriquement entrer dans la composition d'un tel compost si leur concentration finale en polluants organiques et inorganiques ne dépasse pas les seuils imposés. Toutefois, certaines DREAL (Directions Régionales de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement) semblent interpréter cette norme différemment et n'autorisent pas cette pratique (Boulday and Marcovecchio, 2016b).

La cendre étant considérée comme un déchet non dangereux, son application sur le sol dans un contexte agricole s'effectue principalement dans le cadre d'un plan d'épandage (ADEME, 2016, Boulday and Marcovecchio, 2016b) ou plus rarement d'une homologation (Boulday and Marcovecchio, 2016b, ADEME, 2016). Pour appliquer un produit sur une parcelle agricole dans le cadre d'un plan d'épandage, il faut que deux conditions soient réunies :

- Le produit doit apporter un intérêt agronomique à la parcelle par la présence d'éléments fertilisants majeurs (azote, phosphore, potassium, matière organique...).
- Les concentrations en polluants doivent être sous les seuils de l'arrêté du 8 janvier 1998 fixant les prescriptions techniques applicables aux épandages de boues sur les sols agricoles pris en application du décret n° 97-1133 du 8 décembre 1997 relatif à l'épandage des boues issues du traitement des eaux usées.

Toutes ces options sont contraignantes car elles nécessitent d'effectuer des analyses de cendres dont le coût peut dissuader les propriétaires de chaudière. L'envoi en centre d'enfouissement reste l'option la moins coûteuse mais elle néglige le potentiel de valorisation des cendres. Afin que la

combustion de culture énergétique devienne un système durable de production d'énergie, il est nécessaire de minimiser l'enfouissement des cendres de biomasse, qui est actuellement le débouché majoritaire en Europe (Boulday and Marcovecchio, 2016a), et d'en recycler les éléments nutritifs ainsi que de réduire les effets indésirables des substances dangereuses dans les cendres (Li et al., 2016). Une des préoccupations majeures est donc la gestion efficace de ce sous-produit (James et al., 2014).

Réutiliser les cendres de biomasse en agriculture permet de diminuer l'utilisation de fertilisants chimiques, tels que le phosphore et le potassium et de contribuer au cycle des nutriments ; c'est un moyen de rendre durable l'utilisation de la biomasse comme source d'énergie (Cruz-Paredes et al., 2017a, Li et al., 2016). En effet, l'utilisation de cendres comme fertilisant pourrait améliorer les propriétés du sol en augmentant le pH, la densité des particules, la porosité ainsi que la capacité de rétention d'eau du sol (Grumiaux et al., 2015, Gómez-Rey et al., 2012, Füzési et al., 2015) tout en réduisant le coût du traitement et du stockage des déchets. La cendre contient de nombreux nutriments, tels que phosphore, calcium, potassium, magnésium, silice, manganèse, soufre, zinc et fer, et leurs concentrations varient en fonction de la biomasse et de la méthode de combustion utilisée (Biedermann and Obernberger, Cruz-Paredes et al., 2017a, Demeyer et al., 2001, Augusto et al., 2008, Maschowski et al., 2019). La capacité de fertilisation de la cendre de biomasse a été évaluée dans de nombreuses études (Li et al., 2016, Demeyer et al., 2001, Cruz-Paredes et al., 2017a). Des auteurs suggèrent que la cendre de bois pourrait, au moins partiellement, remplacer les engrais synthétiques coûteux (Cruz-Paredes et al., 2017a, Füzési et al., 2015, Li et al., 2016). La plupart utilisent des doses de cendres comprises entre 0.5 et 25 t ha<sup>-1</sup> (Ots et al., 2017, Li et al., 2016, Mandre et al., 2006, Gómez-Rey et al., 2012, Reed et al., 2017). De plus, Fuzesi et al (2015) recommandent de mélanger uniformément la cendre avec la couche supérieure du sol et de ne pas dépasser 1 à 5 t de cendres par hectare afin d'avoir des concentrations optimales en P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> et K<sub>2</sub>O. Par ailleurs, il est recommandé de coupler l'application de cendres avec un engrais azoté afin de compenser l'immobilisation de l'azote (Gómez-Rey et al., 2012, Füzési et al., 2015). Cependant, l'application de cendres peut aussi conduire à une libération de contaminants accumulés pendant la croissance de la plante, entraînant une pollution environnementale (James et al., 2014). Il est nécessaire d'être d'autant plus vigilant concernant la culture du *Miscanthus* qui peut avoir lieu sur des sites pollués (Nsanganwimana et al., 2014). En effet, même si des travaux ont mis en évidence que les teneurs en Cd, Pb et Zn des parties aériennes du *Miscanthus* cultivé sur site pollué sont similaires à celles du *Miscanthus* cultivé sur site non pollué (Bidar et al., 2015), il y a quand même un risque à ce que, dans un autre contexte pédoclimatique, la cendre issue de *Miscanthus* cultivé sur site pollué ait des teneurs en ETM plus élevées conduisant à une contamination. Par ailleurs, à notre connaissance aucune étude n'a été effectuée afin d'évaluer l'effet des cendres de *Miscanthus* sur la qualité du sol. En effet, Silva et al.

(2019) mettent en effet en évidence la nécessité d'évaluer l'effet des cendres sur la qualité du sol dans des contextes de fertilisation, notamment l'effet sur les communautés lombriciennes. En outre, Zając et al. (2018) soulignent qu'en raison de la grande variabilité de la teneur en métaux, les cendres issues de chaque espèce de plante doivent être analysées en détail avant d'être recommandées à des fins de fertilisation.

Par ailleurs, des travaux ont aussi montré que la cendre pouvait être utilisée en phytostabilisation aidée. Cette technique permet d'optimiser l'efficacité de la phytostabilisation en effectuant des traitements complémentaires du sol avec des amendements organiques ou minéraux capables d'adsorber, de complexer ou de (co)précipiter les éléments traces, en parallèle du couvert végétal (Bidar et al., 2016, Lopareva-Pohu et al., 2011a). De plus, en améliorant le développement et la croissance du couvert végétal, ces amendements permettent aussi d'augmenter la capacité de phytostabilisation de l'ensemble de la culture (Kidd et al., 2009). Différents matériaux peuvent être utilisés, tels que la boue de station d'épuration, de compost, de grenaille d'acier, de chaux ou de cendres, en combinaison de plantes, telles que *Agrostis*, *Populus*, *Miscanthus*, *Phaseolus*, *Panicum*, *Lolium* etc., et leurs micro-organismes associés (Lopareva-Pohu et al., 2011a, Bidar et al., 2016, Oustrière, 2016). Suite à l'apport de 230 t ha<sup>-1</sup> de cendres sur un sol contaminé, Lopareva-Pohu et al. (2011a) ont enregistré une amélioration de la croissance de plantes utilisées dans un contexte de phytostabilisation (*Lolium perenne* et *Trifolium repens*) conduisant à une diminution de la concentration en zinc et cadmium extractibles au CaCl<sub>2</sub>. De plus, cette capacité à diminuer la disponibilité des métaux persiste même 10 ans après le traitement et ce, en dépit des changements chimiques et structuraux (Bidar et al., 2016). Par ailleurs, l'équipe de Kumpiene et al. (2007) a révélé qu'un amendement en cendres (5 kg de cendres pour 100 kg de sol) permet une réduction de la lixiviation de 91.1% pour le cuivre et de 87.1% pour le plomb, sur un sol contaminé en cuivre et en plomb. La capacité des cendres à réduire la disponibilité de certains contaminants est due à leur propriété alcalinisante (Lopareva-Pohu et al., 2011a). Ces effets positifs sont donc observés sur des sols acides car l'augmentation de pH favorise la sorption des éléments traces sur les oxydes de fer et d'aluminium ou sur les hydroxydes (Lopareva-Pohu et al., 2011a). Il est à noter les doses de cendres apportées dans les études de phytostabilisation aidée sont largement supérieures aux doses recommandées en fertilisation et peuvent atteindre 230 t ha<sup>-1</sup> (Lopareva-Pohu et al., 2011b, Bidar et al., 2016).

## 2. La qualité du sol

La formation du sol est un processus à long terme dépendant des conditions climatiques, de la nature de la roche mère ainsi que du biote et elle implique la décomposition de minéraux primaires et l'incorporation de matière organique (Chesworth and Martini, 1992) ; c'est donc une ressource non renouvelable (Stolte et al., 2015). En raison des nombreuses fonctions qu'il assure, le sol est une ressource majeure pour les sociétés humaines et les écosystèmes (Bispo et al., 2009a). Parmi les fonctions du sol, telles que la régulation de l'eau, du climat ou du cycle des nutriments (Blouin et al., 2013), certaines sont considérées comme des services écosystémiques. Ceux-ci sont définis par le Millenium Ecosystem Assesment (2005) comme les bénéfices que les humains obtiennent des écosystèmes. La définition de ces services, leur classification et leur lien avec les fonctions et processus du sol ont évolué depuis la création du concept et font régulièrement débat (Fossey et al., 2020). Prenant en compte la définition proposée par le MEA (2005), les services écosystémiques comprennent : (1) des services d'approvisionnement, tels que la nourriture, l'eau ou encore le bois, (2) des services de régulation, qui influent sur le climat, les flux d'eau (inondations), les maladies (régulation biologique), les déchets, ainsi que la qualité de l'eau et de l'air, (3) des services culturels, qui fournissent des bénéfices esthétiques et spirituels, et enfin (4) des services de soutien qui permettent la formation du sol, la photosynthèse et le cycle des nutriments. Depuis l'apparition du concept de fonction du sol dans les années 1970, plusieurs listes de fonctions ont été développées (Stolte et al., 2015). D'après Kibblewhite et al. (2008b), les quatre fonctions majeures qui permettent à un sol agricole de fournir des services écosystémiques sont : (1) le cycle des nutriments, (2) la transformation du carbone, (3) le maintien de la structure du sol et (4) la régulation des maladies. Le concept de qualité du sol permet de faire le lien entre les fonctions du sol et ses propriétés. La notion de qualité du sol a longtemps été associée à sa fertilité ainsi qu'au service de production agricole, car il s'agit d'une des premières fonctions recherchées (Stauffer, 2014). Il est maintenant admis que les sols ne sont pas seulement des supports de production mais des systèmes complexes interagissant avec leur environnement afin de fournir de nombreux services (Vogel et al., 2018, Keesstra et al., 2016). En effet, le Joint Research Center définit la qualité du sol comme son aptitude à fournir des services écosystémiques et sociétaux grâce à sa capacité à remplir ses fonctions et à répondre aux influences extérieures (Tóth et al., 2007). Il est possible de regrouper les propriétés du sol impliquées dans ces fonctions en deux groupes : (i) les propriétés inhérentes, telles que la texture, la minéralogie et la profondeur, qui changent peu avec les pratiques de gestion des sols et (ii) les propriétés dynamiques, telles que la teneur en matière organique, la disponibilité des nutriments ou encore l'activité biologique (Li et al., 2014, Obriot et al., 2016). Alors que les propriétés inhérentes du sol sont



principalement influencées par le climat, les propriétés dynamiques peuvent aussi l'être par le climat et les activités anthropiques (Viaud et al., 2018).

Les menaces qui pèsent sur le sol peuvent altérer la réalisation de ces fonctions ainsi que la fourniture de services écosystémiques (Jones et al., 2008). Le Joint Research Center a établi une liste de neuf menaces qui pèsent sur les sols européens (Stolte et al., 2015). Quatre d'entre elles sont principalement influencées par le climat mais elles peuvent être aggravées par les activités humaines (Ritchie, 2000). Il s'agit de (1) l'érosion par la pluie et le vent, qui concerne respectivement 17% et 28% des sols en Europe, (2) la salinisation, (3) la désertification, et (4) des inondations et glissements de terrain (Stolte et al., 2015). A l'inverse, la perméabilisation des sols, qui représentait 2.3% de la surface de l'Europe en 2006 (Stolte et al., 2015) a principalement une origine anthropique tout comme la contamination (Panagos et al., 2013). D'autres menaces ont des causes climatiques et anthropiques ; c'est le cas du déclin de la matière organique et de la biodiversité ainsi que de la compaction du sol (Stolte et al., 2015). Parmi ces nombreux processus de dégradation du sol, le déclin de la biodiversité est particulièrement préoccupant car il affecte de manière significative la capacité du sol à fonctionner et à répondre aux perturbations (Stolte et al., 2015). Cette menace est liée à d'autres processus de dégradation tels que l'érosion, la compaction et la contamination (Stolte et al., 2015). En Europe, plus de 2.5 millions de sites sont contaminés et le coût de restauration de ces sites est estimé à plus de 6.5 milliards d'euros par an (Panagos et al., 2013). Cette contamination est majoritairement due aux déchets municipaux et industriels (37%) (Stolte et al., 2015), mais elle peut aussi être entraînée par les apports issus de l'agriculture ou du trafic routier (Villanneau et al., 2008). Elle conduit à une perte de services écosystémiques tels que la production d'aliments ou la rétention des contaminants (Science Communication Unit, 2013). On retrouve une large variété de contaminants dans le sol, tels que métaux lourds, huiles minérales, Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP), cyanure, Benzène, Toluène, Ethylbenzène, Xylène (BTEX) et phénols, qui sont les contaminants les plus courants (Science Communication Unit, 2013). Les teneurs en éléments traces dans le sol pouvant aussi être d'origine naturelle, il n'existe pas en France de valeurs seuils réglementaires nationales pour déterminer si un sol est contaminé (Villanneau et al., 2008, Mathieu et al., 2008). Cependant, certains auteurs suggèrent des valeurs régionales au-dessus desquelles on peut considérer que la teneur en éléments traces est anormale (Villanneau et al., 2008, Mathieu et al., 2008). Lorsque la concentration d'au moins un élément trace métallique dépasse la valeur normale régionale, le site est considéré contaminé en l'absence d'effet négatif observé sur un quelconque compartiment de l'écosystème ou de l'agrosystème étudié (Mathieu et al., 2008). A l'inverse, si un effet négatif est enregistré, le site est considéré pollué (Mathieu et al., 2008).

Afin de suivre les modifications des propriétés du sol sous l'influence des activités humaines et du climat, il est nécessaire d'effectuer des mesures et de quantifier des variables utilisées en tant qu'indicateurs permettant de détecter la présence ou d'évaluer le niveau et l'évolution d'un phénomène (Balloy et al., 2017). Une étape importante de l'évaluation de la qualité du sol consiste à identifier un ensemble de propriétés sensibles qui donnent des indications sur la capacité d'un sol à fonctionner et qui peuvent être utilisées comme indicateurs (Bünemann et al., 2018). Cependant, bien que la qualité du sol soit devenue un sujet de recherche majeur ces vingt dernières années (Karlen and Stott, 1994, Stott et al., 2010, Pérès et al., 2011, Stauffer, 2014), et qu'il soit admis que son évaluation ne doit plus se limiter aux objectifs de gestion des sites (Andrews et al., 2002b), il n'existe toujours pas de consensus concernant les indicateurs et la méthode à utiliser afin d'effectuer son évaluation (Thoumazeau et al., 2019, Bünemann et al., 2018). De plus, certains facteurs extrinsèques liés au site, tels que la topographie, l'hydrologie, la roche mère et le climat, ont une influence sur les propriétés du sol et ne permettent donc pas d'établir des valeurs de références universelles (Bünemann et al., 2018). Pendant longtemps, les indicateurs classiquement utilisés pour l'évaluation de la qualité du sol ont essentiellement reposé sur des propriétés physiques et chimiques (Bispo et al., 2009b). Afin d'assurer une évaluation robuste, la nécessité d'utiliser des indicateurs biologiques a été mise en évidence par de nombreux travaux (Pérès et al., 2011, Kibblewhite et al., 2008a, Bispo et al., 2009b, Bünemann et al., 2018).

Parmi les indicateurs chimiques classiquement utilisés, le carbone organique (et/ou la matière organique), le pH ainsi que la teneur en phosphore disponible sont les plus fréquemment utilisés (Bünemann et al., 2018). La matière organique est un levier essentiel pour la durabilité des systèmes de production sur lequel il est possible d'intervenir (Blanchard et al., 2014). En effet, c'est une source d'éléments nutritifs via les processus de minéralisation et elle est impliquée dans diverses propriétés physiques du sol, tels que la capacité de rétention d'eau du sol, la porosité, et chimiques comme la capacité d'échange cationique ou la conductivité électrique (Li et al., 2014). Concernant le pH, il a une influence sur le cycle des nutriments (Li et al., 2014), en raison de ses effets sur la disponibilité en nutriments (Truog, 1947) et sur l'activité microbienne (Wardle, 1992). D'autres indicateurs chimiques sont aussi couramment utilisés tels que le potassium disponible, l'azote total, la conductivité électrique, la capacité d'échange cationique ou encore la teneur en éléments traces métalliques (Bünemann et al., 2018). La teneur totale d'un élément trace métallique à un moment donné peut être évaluée avec des extractants tels que l'acide fluorhydrique, l'acide nitrique, l'acide chlorhydrique ou un mélange de plusieurs acides (Baize, 1994). Mais cette mesure ne donne aucune information sur la mobilité des éléments dans le sol ni sur leur biodisponibilité. La teneur en éléments traces

biodisponibles correspond à la fraction des ETM pouvant rentrer en contact avec les récepteurs des organismes vivants (Ehlers and Luthy, 2003). La disponibilité des ETM dépend des propriétés du sol (Feng et al., 2005) et plusieurs méthodes permettent de l'évaluer, notamment avec des sels solubles (nitrate, chlorure ou sels d'ammonium), l'EDTA, le DTPA ou des acides dilués (Cornu and Clozel, 2000).

Concernant les indicateurs physiques, les plus utilisés sont : (1) la réserve utile impliquée dans la capacité du sol à stocker de l'eau, (2) la densité apparente, (3) la texture du sol, (4) la stabilité structurale et (5) la profondeur du sol (Bünemann et al., 2018). La stabilité des agrégats est utilisée comme un indicateur de la structure du sol (Bronick and Lal, 2005). Elle est influencée par le carbone organique, le biote, les ponts ioniques, les argiles et les carbonates (Bronick and Lal, 2005, Le Bissonnais, 1996, Tisdall and Oades, 1982). En raison de son influence sur le maintien de la porosité des sols, elle joue un rôle important dans l'amélioration de la fertilité (Bronick and Lal, 2005). De plus, cette propriété est souvent utilisée pour mesurer la sensibilité des sols à la battance et à l'érosion hydrique (Le Bissonnais, 1996).

Ces dernières années, des programmes de recherche ont mis en lumière l'importance de l'utilisation de la biologie du sol (macrofaune et micro-organismes du sol en quantité et activité) dans le cadre de la surveillance du sol. C'est notamment le cas du programme RMQS BioDiv, développé dans le but d'étudier un grand nombre d'organismes du sol afin d'appréhender leur rôle de bioindicateur (Cluzeau et al., 2012). Le projet européen ENVASSO a permis de définir et de documenter trois indicateurs du déclin de la biodiversité du sol. Il s'agit de la diversité des lombriciens, des collemboles et de la respiration microbienne (Kibblewhite et al., 2008a, Bispo et al., 2009a). Plus récemment, les travaux de Griffiths et al. (2016), soulignent aussi l'intérêt des communautés lombriciennes, des gènes fonctionnels microbiens et des bait-lamina, comme indicateurs du fonctionnement des écosystèmes en lien avec les services écosytémiques de séquestration du carbone, de régulation hydrique et de production de nutriments. En outre, Bünemann et al. (2018) indiquent que les indicateurs biologiques les plus utilisés sont la biomasse microbienne, la minéralisation de l'azote ainsi que l'abondance des lombriciens.

Le programme « Bioindicateurs de Qualité des sols » (<https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/>) a été mis en place par l'ADEME pour développer des bioindicateurs et mettre en avant l'intérêt d'intégrer ces outils i) dans les diagnostics de pollution des sols en complément des analyses physico-chimiques (Beguiristain et al., 2012), ii) dans les diagnostics de qualité des sols soumis à différentes contraintes en milieu agricole, iii) dans les réseaux de surveillance de la qualité des sols

déployés à l'échelle nationale. Ce programme a permis d'identifier des bioindicateurs pertinents en fonction des différents objectifs (surveillance, diagnostic, évaluation des risques), de calibrer ces indicateurs et de proposer des outils transférables (indicateurs, batteries, indices) aux utilisateurs (Bispo et al., 2017). Néanmoins, malgré les efforts déployés pour mettre en avant ces outils, ils sont encore sous-représentés dans la littérature (Bünemann et al., 2018). Les principales raisons qui pourraient expliquer cette faible utilisation sont le coût de l'analyse des indicateurs biologiques (O'Sullivan et al., 2017) associé à la difficulté d'établir des valeurs de références (Kibblewhite et al., 2008a). Cependant, la synergie déployée depuis une dizaine d'années entre les chercheurs et entre les programmes de recherche, permet de combler ce déficit (Cluzeau et al., 2012, Bispo et al., 2017, Grand et al., 2018). Selon Hopkin (1994, in Pérès, 2003), un bon indicateur doit satisfaire à quatre principales règles 1) pertinence : l'indicateur doit avoir un rôle important dans le fonctionnement de l'écosystème et doit être en cohérence avec le problème posé et l'échelle d'investigation, 2) fiabilité : l'indicateur doit avoir une large distribution, être commun et facile à prélever, 3) sensibilité : l'indicateur doit présenter des réponses mesurables, 4) reproductibilité : les réponses à des perturbations similaires doivent être similaires. Se focalisant sur les indicateurs biologiques, d'après Bispo et al. (2009b), le bio-indicateur « idéal » doit avoir les caractéristiques suivantes : (1) être connu et validé scientifiquement, (2) être lié ou corrélé à des fonctions de l'écosystème, (3) intégrer des propriétés ou des processus physiques, chimiques ou biologiques du sol, (4) pouvoir rendre compte des méthodes de gestion des sols et différents types de pollution du sol, (5) présenter des qualités de mesure, (6) être facile à utiliser et peu cher.

La biomasse microbienne a un rôle dans la régulation, la transformation et le stockage des nutriments. Elle est donc un facteur déterminant dans la qualité biologique des sols (Viollet, 2012). Plusieurs méthodes existent pour évaluer la biomasse microbienne du sol. L'évaluation des acides gras phospholipidiques totaux (PLFA) est utilisée en routine pour estimer la biomasse microbienne du sol (Leckie et al., 2004). Il est aussi possible d'effectuer une analyse moléculaire de l'ADN extrait du sol (Leckie et al., 2004). La méthode d'extraction du carbone microbien par fumigation/extraction au chloroforme (CFE) est une technique plus classique que les deux précédentes (Leckie et al., 2004). Cette méthode consiste à calculer le rapport entre le carbone microbien et le carbone total du sol (Balloy et al., 2017). Des comparaisons effectuées entre la méthode CFE et celle de l'extraction d'ADN du sol ont révélé une forte corrélation entre ces deux techniques, permettant de conclure qu'elles sont équivalentes pour mesurer la biomasse microbienne du sol (Dequiedt et al., 2011). Comme le carbone organique total change relativement lentement, les mesures du carbone de la biomasse microbienne du sol fournissent des indications précoces sur les futurs changements du carbone organique total, permettant ainsi de faciliter la détection des changements résultant des modifications de pratiques de

gestion des terres (Li et al., 2014). Par ailleurs, les activités enzymatiques ont souvent été proposées comme indicateur sensible de la qualité écologique du sol car elles mesurent les principales réactions microbiennes impliquées dans les cycles des nutriments. De plus, elles répondent facilement aux changements, qu'ils soient de causes naturelles ou anthropiques, et elles sont faciles à mesurer (Karaca et al., 2010).

Dans la majorité des écosystèmes terrestres, les vers de terre constituent la biomasse animale la plus importante (Lavelle and Spain, 2001). Ayant une grande influence sur la structure du sol et sur son fonctionnement (Grumiaux et al., 2015, Blouin et al., 2013), les vers de terre sont qualifiés d'ingénieurs des écosystèmes en raison de leur action sur les propriétés biologiques, chimiques et physiques du sol aboutissant à une modification des conditions d'habitat pour les autres organismes du sol (Bispo et al., 2009a, Balloy et al., 2017, Lavelle et al., 1997, Lavelle et al., 2016, Jones et al., 1994). En effet, les lombriciens affectent positivement le cycle des nutriments, la décomposition de la litière, la capacité de rétention d'eau du sol, l'infiltration de l'eau, l'aération ainsi que la structure du sol (Bispo et al., 2009a; Blouin et al., 2013 ; Balloy et al 2017). En outre, ils permettent la réduction de l'érosion, l'augmentation de la production végétale ainsi que la diminution des risques de pollution (Blouin et al., 2013, Balloy et al., 2017). De plus, ils représentent un partenaire potentiel dans la gestion des services écosystémiques (Blouin et al., 2013). Les espèces lombriciennes sont généralement regroupées en trois catégories écologiques qui se basent sur des traits morphologiques, physiologiques et comportementaux (Bouché, 1977, Bouché, 1971, Lavelle, 1983):

- (i) **les épigés**, qui sont de petite taille (inférieure à 5 cm), de couleur foncée et vivent en surface du sol, ne creusent pas ou peu de galerie et se nourrissent exclusivement de matière organique.
- (ii) **les endogés**, qui sont de taille petite à moyenne (1 à 20 cm de long), de couleur claire dans les tons de rose, vert ou blanc. Ils vivent exclusivement dans le sol et creusent des galeries horizontales à subhorizontales. Ils se nourrissent de matières organiques intégrées à la matière minérale.
- (iii) **les anéciques**, qui sont de taille moyenne à géante (10 à 110 cm de long). Ils possèdent un gradient antéro-postérieur de décoloration. Ils se déplacent dans des galeries verticales à subverticales et se nourrissent de litière en surface du sol et de la matière minérale dans les horizons sous-jacents.

Des sous-catégories écologiques ont été suggérées, sachant que ces trois catégories écologiques représentent les trois pôles d'un continuum (Hoeffner et al., 2019, Hoeffner et al., 2018). C'est le cas

des anéciques qui se subdivisent en i) épi-anéciques, une catégorie intermédiaire entre les anéciques et les épigés, et ii) les anéciques stricts.

Les lombriciens sont connus pour être des bioindicateurs permettant d'évaluer les effets de la contamination du sol par les ETM et les pesticides, les effets des pratiques agricoles et plus largement la qualité des sols (Cluzeau et al., 2012, Grumiaux et al., 2015, Fründ et al., 2011, Pérès et al., 2011, Peres et al., 2006, Pélosi et al., 2013). Bien qu'ils soient rares, voire absents, dans les sols acides ou gorgés d'eau, ils sont de très bons indicateurs de dégradation dans la plupart des sols (Bispo et al., 2009a). L'abondance, la biomasse ainsi que la diversité des espèces de vers de terre ont été sélectionnés comme des indicateurs clés du suivi de la biodiversité des sols (Bispo et al., 2009a). Les lombriciens font d'ailleurs partie des trois indicateurs biologiques préconisés par le programme européen ENVASSO dans le cadre du suivi du déclin de la biodiversité des sols (Bispo et al, 2009). Sur le terrain, il est possible de distinguer plusieurs descripteurs à partir du comptage et de la caractérisation des lombriciens (Balloy, 2017). En effet, d'après Balloy et al, (2017) les paramètres fournis par cet organisme sont :

- des indicateurs globaux, tels que l'abondance (nombre d'individus  $m^{-2}$ ) et la biomasse totale ( $g\ m^{-2}$ ),
- des indicateurs fonctionnels tels que l'abondance par catégories écologiques,
- des indicateurs taxonomiques tels que la richesse, la diversité ou encore l'équitabilité.

L'étude des communautés de vers de terre est simple à mettre en œuvre et il est possible d'associer ses changements à l'évolution de processus écosystémiques auxquels les lombriciens contribuent (Balloy et al, 2017).

Afin d'évaluer la qualité du sol, et notamment sa fonction d'habitat, tout en s'affranchissant des contraintes climatiques et des facteurs confondants du terrain, il est possible d'étudier les lombriciens en conditions contrôlées au laboratoire (Fründ et al., 2011). Si ces approches en conditions contrôlées peuvent certaines fois éloigner les résultats de la réalité et de la complexité du terrain, elles présentent plusieurs intérêts. En plus de permettre une meilleure répétabilité des expériences, ces tests sont plus pratiques à mettre en œuvre et peuvent être effectués à tout moment de l'année (Fründ et al., 2011). Des tests standardisés ont été développés afin d'évaluer l'effet d'un apport dans le sol de substances sur différents paramètres tels que la mortalité et la croissance (ISO 11268-1, 2012), la reproduction (ISO 11268-2, 2015) ou le comportement d'évitement (ISO 17512-1, 2008). C'est l'espèce épigée *Eisenia fetida* qui est recommandée dans ces tests, en raison de son cycle de vie court, de son taux de fécondité élevé, de sa culture facile et de sa disponibilité dans le commerce. Mais la pertinence de son

utilisation a été remise en question dans de nombreuses études (Lowe and Butt, 2007, Bami et al., 2017a, Bart et al., 2018). En effet, cette espèce n'habite pas directement dans le sol et a une distribution limitée associée à la présence de matière organique en surface contrairement à la catégorie écologique des endogés qui est de plus en plus préconisée (Bart et al., 2018, Butt and Lowe, 2011). L'espèce *Apporectodea caliginosa* a notamment été recommandée et elle est déjà utilisée dans des études écotoxicologiques car elle est représentative des champs cultivés dans les régions tempérées (Bart et al., 2018, Bart et al., 2019a).

### 3. Influence du Miscanthus sur la qualité du sol

Le Miscanthus étant une culture pérenne dont le sol n'est pas travaillé, cultivé avec peu voire pas de pesticides et de produits fertilisants, des effets positifs indirects de cette culture sur la biodiversité ont été enregistrés, notamment dans des zones où les cultures annuelles prédominent (Semere and Slater, 2007, Bellamy et al., 2009). Les parcelles de Miscanthus jouent un rôle d'habitat en raison de (1) la faible utilisation d'intrants agrochimiques qui fournit à la faune indigène un habitat amélioré (Semere and Slater, 2007), (2) la chute des feuilles qui forment une litière en surface (Felten and Emmerling, 2011) et (3) la taille de la plante et la densité des cultures de Miscanthus qui en font un substitut aux arbres et aux haies, car elles lui permettent de servir de refuge pour les animaux chassés, tels que le cerf, le lièvre, la caille, la perdrix grise ou les grands prédateurs (Emmerling and Pude, 2017). La culture du Miscanthus favoriserait l'abondance et la diversité des communautés lombriciennes en comparaison d'une culture de céréale (Felten and Emmerling, 2011), augmenterait le nombre de scarabées et d'araignées par rapport à une culture de maïs (Emmerling et al., 2017), favoriserait les populations d'oiseaux par comparaison avec une culture de blé notamment au moment de l'établissement de la culture (Bellamy et al., 2009). Ces effets bénéfiques sur la biodiversité ont aussi été enregistrés lorsque le Miscanthus est cultivé sur des sites contaminés (Hedde et al., 2013a, Hedde et al., 2012, Bourgeois et al., 2015a, Bourgeois et al., 2015b, Chauvat et al., 2014). En effet, sur des sites contaminés par des métaux, la culture de Miscanthus favorise l'abondance et la diversité des collemboles en comparaison d'une culture de blé (Chauvat et al., 2014). Par ailleurs, les sites contaminés suite à des épandages de boues de stations d'épuration ont, dans les cultures de Miscanthus, une densité et une diversité d'invertébrés du sol plus élevées, ainsi qu'une plus grande proportion d'espèces résidentes, détritivores et rhizophages par comparaison avec des cultures annuelles (Hedde et al., 2013a, Hedde et al., 2013b). La culture de Miscanthus sur site pollué aurait aussi un impact positif sur les communautés microbiennes en stimulant la diversité microbienne de

20% et la diversité fongique de 10% (Bourgeois et al., 2015a). En outre, les populations microbiennes stimulées par la culture de *Miscanthus* contribueraient à la restauration de la qualité écologique du sol en rétablissant les interactions biotiques entre les plantes et les communautés microbiennes ainsi qu'en redémarrant les cycles du carbone et de l'azote (Bourgeois et al., 2015b). Le suivi de la biodiversité des parcelles cultivées de *Miscanthus* permet donc de s'assurer de la durabilité de la production énergétique (Dauber et al., 2010, Semere and Slater, 2007).

La culture du *Miscanthus* contribuerait aussi à la réduction des émissions de gaz à effet de serre grâce à son potentiel d'atténuation du CO<sub>2</sub> (Emmerling and Pude, 2017). Elle permet l'accumulation de 1,1 Mg C ha<sup>-1</sup> an<sup>-1</sup> dans les premiers 60 cm de sol et peut être considérée comme un puits de CO<sub>2</sub> (Felten et al, 2013). Par ailleurs, l'absence de travail du sol de la culture aurait un effet bénéfique sur la stabilité des agrégats conduisant à la réduction de l'érosion du sol (Emmerling and Pude, 2017).

Le *Miscanthus* a la capacité de se développer sur des sols relativement pauvres en nutriments et multi-contaminés en polluants organiques et inorganiques (Techer et al., 2012, Al Souki et al., 2017, Nsanganwimana et al., 2014). De plus, même si les teneurs en ETM dépendent de la période de récolte, les ETM sont généralement stockés dans la partie souterraine de la plante et peu transférés dans la partie aérienne, sachant que le BCF (*Bioconcentration Factor*, ratio entre la teneur en ETM dans la partie aérienne de la plante et le sol) et le TF (*Translocation Factor*, ratio entre la teneur en ETM dans la partie aérienne et la partie souterraine de la plante) sont généralement inférieurs à 1 (Nsanganwimana et al., 2014). Ces propriétés permettent au *Miscanthus* d'être utilisé en phytostabilisation (Bidar et al., 2015, Nsanganwimana et al., 2014, Korzeniowska and Stanislawska-Glubiak, 2015). Ce procédé consiste à fixer les éléments traces dans la rhizosphère par adsorption et/ou précipitation, limitant ainsi leur migration dans les eaux souterraines et dans les réseaux trophiques (Bidar et al., 2016). Cette culture est donc particulièrement adaptée aux terres marginales (Davey et al., 2017). La définition du terme « terre marginale » varie selon le pays, les conditions locales et l'organisation dans lequel il est étudié (Dale et al., 2010). D'un point de vue économique, un site est classé dans la catégorie « terre marginale » lorsque sa productivité n'est pas suffisante pour compenser les coûts de production, ce qui peut varier en fonction de la culture sélectionnée (Dale et al., 2010). Dans cette étude, terre marginale désignera les terres inutilisées pour la production alimentaire car inaccessibles, dégradées ou abandonnées en raison de leur faible productivité (Shortall, 2013, Dale et al., 2010).

L'implantation de cultures énergétiques dans le paysage agricole, tel que le *Miscanthus*, pourrait stimuler l'économie rurale par la diminution de l'abandon des exploitations agricoles ou par la restauration des terres dégradées, conduisant ainsi à une augmentation de la valeur de la biodiversité

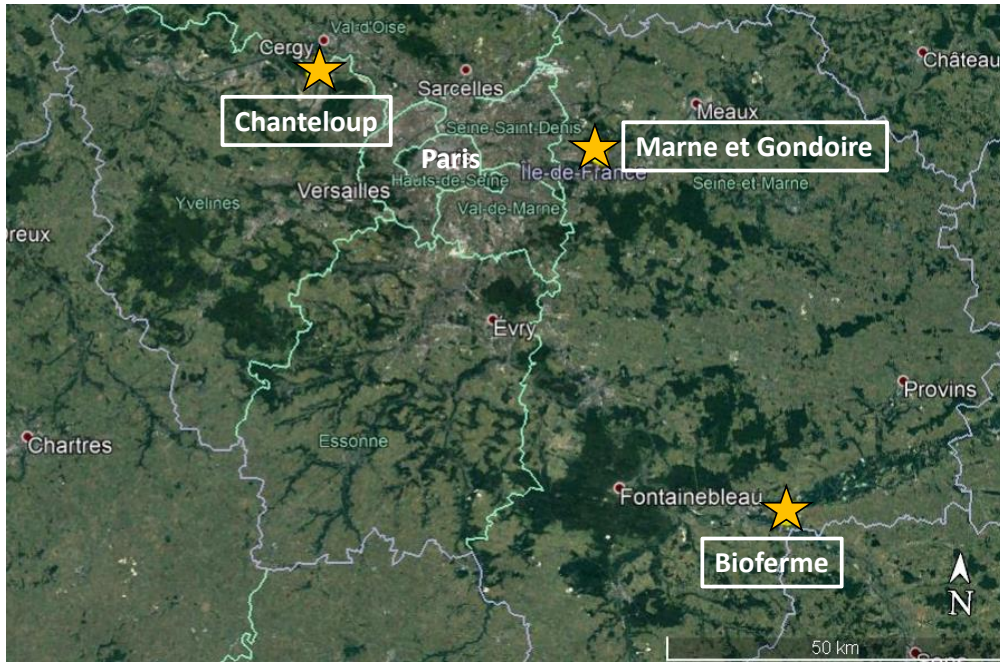


(Dauber et al., 2010). De plus, sa culture sur terres marginales est recommandée afin de ne pas concurrencer la production de denrées alimentaires (Miyake et al., 2012). La culture du *Miscanthus* est d'ailleurs encouragée à l'échelle européenne. En effet, lorsqu'elle n'est ni traitée avec des produits phytopharmaceutiques, ni fertilisée, elle peut être déclarée depuis 2018 comme Surface d'Intérêt Ecologique (SIE) afin de bénéficier des subventions de la Politique Agricole Commune (Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation, 2020). Cependant, pour le moment, aucune étude n'a évalué l'influence de la culture du *Miscanthus* sur les composantes physiques, chimiques et biologiques du sol alors que cette approche est nécessaire pour en effectuer une évaluation robuste.

## 4. Objectifs de recherche de la thèse

L'objectif général de cette thèse, qui s'inscrit dans le projet plus large Biomasse For the Future (BFF, Projet ANR 11-BTBR-0006), est d'évaluer la durabilité agro-environnementale de la filière thermique du *Miscanthus*. La qualité du sol est au centre de cette évaluation avec une importance particulière donnée aux communautés lombriciennes comme bioindicateur particulièrement sensible aux pratiques associées à la filière du *Miscanthus*. Cette étude associe des approches terrain et des approches laboratoire. Les phases terrain ont été conduites sur trois sites (figure 3) initialement choisis pour leur degré de contamination en métaux lourds croissants, au sein desquels des parcelles ont été cultivées depuis 5 ans avec une culture de *Miscanthus* selon les mêmes modalités de conduite de la culture. Les deux sous-objectifs de cette étude sont les suivants :

1. Le premier objectif est d'évaluer la qualité du sol d'une culture de *Miscanthus × giganteus* dans différents contextes de contamination et de marginalité afin d'avoir une vision globale de l'effet de la plante sur la qualité de trois types de sol différents. L'originalité de cette étude réside dans l'approche multicritère de l'évaluation de la culture du *Miscanthus* dans trois sites différents (figure 3) : un site agricole (Bioferme), un site marginal non pollué (Marne et Gondoire) et un site marginal pollué (Chanteloup). Les composantes physiques, chimiques et biologiques du sol sont étudiées au sein de parcelles cultivées en *Miscanthus* depuis cinq ans. Dans un premier temps, l'étude se concentrera sur les deux sites marginaux, comparés au site agricole (chapitre 2.1) puis une évaluation sur le site agricole (Bioferme) sera développée afin de comparer la qualité du sol sous *Miscanthus* à celle d'une culture de blé et d'une zone non cultivée (chapitre 2.2).



**Figure 3** : Carte des trois sites d'étude (Chanteloup, Marne et Gondoire et Bioferme) localisés dans la région Île-de-France

2. Le second objectif est d'évaluer l'impact des cendres, issues de la combustion de *Miscanthus × giganteus*, sur la qualité du sol dans un contexte agricole et de déterminer si leur application peut s'entendre dans le cadre d'une agriculture durable (figure 4, étape 2). Deux approches complémentaires ont été développées, une approche en laboratoire qui s'est focalisée sur l'effet des cendres sur les vers de terre et une approche terrain multiparamètre. L'effet de différentes doses de cendres de *Miscanthus × giganteus* sur la survie, la croissance, la reproduction et le comportement d'évitement de l'espèce lombricienne endogée *A. caliginosa* sera développé (chapitre 3.1 et 3.2). Ces études en conditions contrôlées permettront de déterminer des doses de cendres n'ayant pas d'impact négatif sur cette espèce lombricienne. L'expérimentation menée au champ portant sur l'effet de différentes doses de cendres de *Miscanthus × giganteus* sur la qualité du sol sera présentée dans le chapitre 3.3. Une évaluation multiparamètre permettra de prendre en compte les composantes physique, chimique et biologique du sol, ainsi que le rendement en blé.

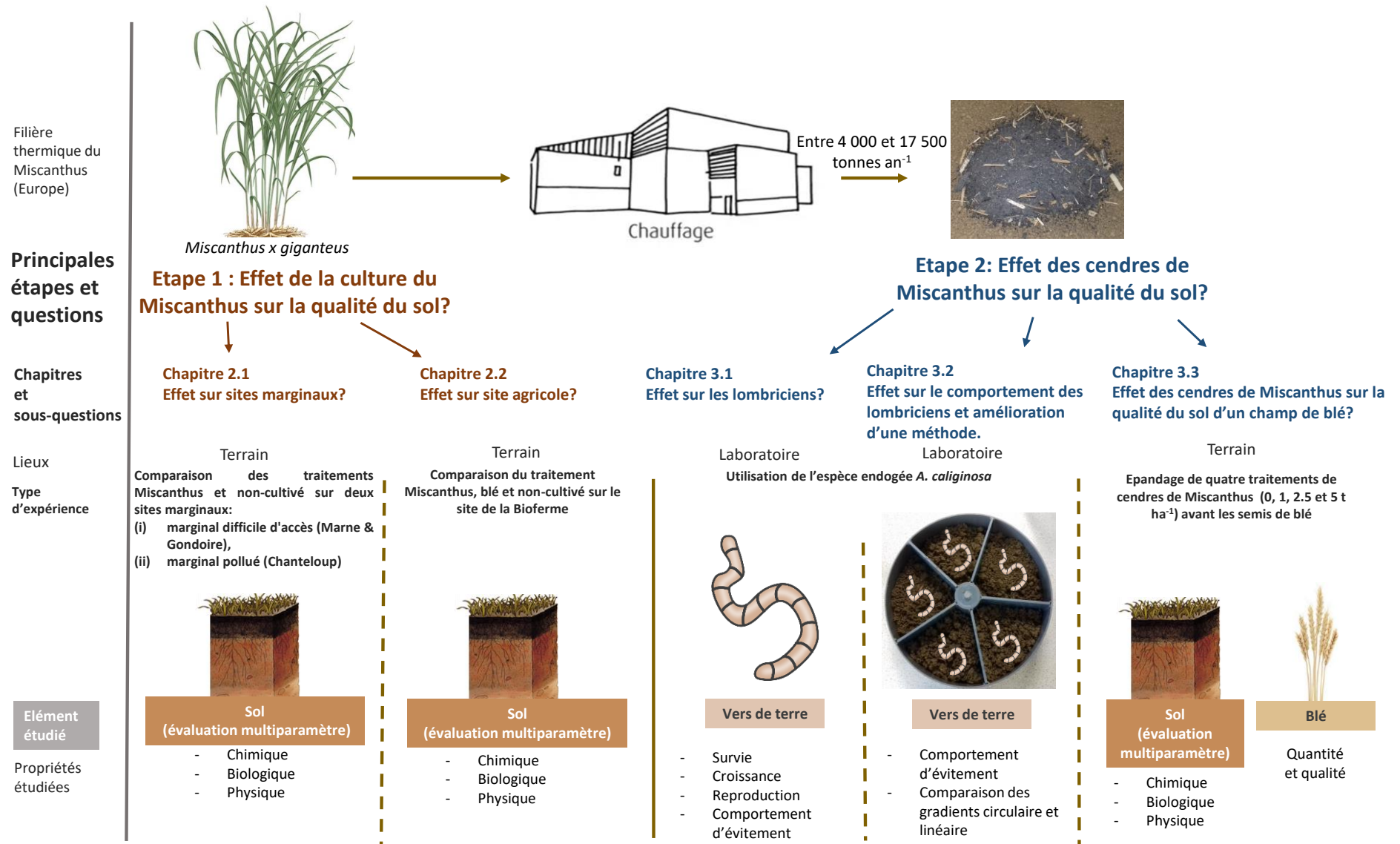


Figure 4 : Schéma général de la thèse





## Chapitre 2

Effet de la culture du *Miscanthus × giganteus* sur la qualité du sol



## Chapitre 2.1

Évaluation multiparamètre de la qualité du sol sous  
une culture de *Miscanthus × giganteus* sur des  
sites marginaux d'Île-de-France



Le chapitre 2.1 correspond à un article publié dans la revue internationale *Biomass & Bioenergy* 142 (2020) 105793, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105793>.

### Résumé

Afin d'atteindre les objectifs de réduction d'utilisation des énergies fossiles et de réduire sa dépendance énergétique, l'Union Européenne encourage l'implantation de cultures énergétiques. Cependant, l'implantation de ces cultures sur des terres arables conduirait à l'accroissement des prix des denrées alimentaires. Il a donc été suggéré d'implanter les cultures énergétiques sur des terres marginales. Le terme "terre marginale" n'est pas clairement défini et il désigne différents sites qui peuvent être inutilisés, inaccessibles ou dégradés et sur lesquels il n'y a pas de cultures alimentaires. Cependant, bien qu'ils ne permettent aucun intérêt économique direct, ces sites pourraient aussi être des réservoirs de biodiversité. Alors que certains auteurs ont mis en évidence que l'implantation des cultures énergétiques sur des terres marginales pouvait entraîner de potentiels effets négatifs sur la biodiversité, il est indispensable de s'assurer que la culture du *Miscanthus* sur ce type de site n'entraîne pas une dégradation de la qualité du sol. L'objectif de cette étude est donc de réaliser une évaluation multiparamètre de la qualité du sol sous une culture de *Miscanthus × giganteus* sur différents sites marginaux. Les propriétés chimiques (pH,  $C_{org}$ ,  $N_{tot}$ , C/N, éléments traces métalliques), biologiques (biomasse microbienne, communautés lombriciennes) et physiques (stabilité structurale, densité apparente) du sol ont été évaluées cinq ans après l'implantation de *Miscanthus* sur un site marginal pollué (Chanteloup) et non pollué (Marne et Gondoire). Elles ont été comparées à des prairies adjacentes ainsi qu'à une culture du *Miscanthus* sur un site agricole (Bioferme). Des informations complémentaires sur les caractéristiques des sites sont présentées en annexe 1. Les résultats ont révélé que l'effet du *Miscanthus* sur la qualité du sol était site dépendant et était lié aux propriétés du sol (texture), à la contamination par les éléments traces métalliques ainsi qu'à l'historique du site. À Marne et Gondoire, site sur lequel le *Miscanthus* a été implanté sur une ancienne prairie non perturbée, les résultats ont mis en évidence un effet délétère du *Miscanthus* sur les propriétés biologiques du sol, avec une abondance et une biomasse lombriciennes, une structure fonctionnelle et une richesse spécifique inférieure dans le *Miscanthus* par comparaison à la prairie non perturbée adjacente, malgré un bon rendement. Sur le site de la Bioferme, les résultats de qualité du sol obtenus dans le traitement *Miscanthus* sont similaires à ceux obtenus dans le traitement *Miscanthus* du site de Marne et Gondoire et sont supérieurs à ceux obtenus dans le traitement *Miscanthus* du site pollué de Chanteloup. Sur le site de Chanteloup, les résultats suggèrent que le *Miscanthus* pourrait réduire la mobilité des éléments traces métalliques mais des études complémentaires à long terme sur différents types de sites sont nécessaires pour conclure concernant l'influence du *Miscanthus* sur la qualité du sol sur site contaminé et/ou non contaminé.

# Multi-parameter assessment of soil quality under *Miscanthus × giganteus* crop at marginal sites in Île-de-France

## Authors

Claire BRAMI<sup>1,2,3\*</sup>, Christopher Nathan LOWE<sup>2</sup>, Safya MENASSERI<sup>1</sup>, Thierry JACQUET<sup>3</sup>, Guénola PERES<sup>1</sup>

<sup>1</sup>: UMR SAS, Institut Agro, INRAE, 65 rue de Saint-Brieuc, 35042 Rennes, France  
[guenola.peres@agrocampus-ouest.fr](mailto:guenola.peres@agrocampus-ouest.fr), [safya.menasseri@agrocampus-ouest.fr](mailto:safya.menasseri@agrocampus-ouest.fr)

<sup>2</sup>: University of Central Lancashire, Preston, UK, [cnlowe71@gmail.com](mailto:cnlowe71@gmail.com)

<sup>3</sup>: Phytorestore, 53 avenue Philippe Auguste, 75011 Paris, France [thierry.jacquet@phytorestore.com](mailto:thierry.jacquet@phytorestore.com)

\*corresponding author:

Mail: [c.brami@phytorestore.com](mailto:c.brami@phytorestore.com)

Telephone: +33 (0)6 85 29 02 56

## Abstract

In the context of increasing biomass cultivation for energy production in Europe, the objective of this study was to carry out a multi-parameter assessment of soil quality under *Miscanthus × giganteus* crop at marginal sites. Chemical (pH, C<sub>org</sub>, N<sub>tot</sub>, C:N, metal trace elements), biological (microbial biomass, earthworm communities) and physical (aggregate stability, bulk density) soil properties were evaluated 5 years after planting *Miscanthus* on a polluted (CH) and unpolluted (MG) marginal sites and compared with adjacent undisturbed meadow areas and *Miscanthus* crop cultivated on an arable field (BF). The effect of *Miscanthus* on soil quality was site dependent and related to soil properties (texture), metal trace element (MTE) contamination and previous land use. At MG, where *Miscanthus* was cultivated on a previously undisturbed meadow, results suggested a negative effect of *Miscanthus* on soil biological properties with a lower earthworm abundance and biomass, and a worst functional and species structure in the *Miscanthus* than in the undisturbed meadow, despite a good yield. Results under *Miscanthus* at BF were similar in terms of soil quality to *Miscanthus* at MG and higher than under *Miscanthus* at the polluted site (CH). At CH, results suggested that *Miscanthus* may reduce the mobility of MTE, however further longer term studies, at a range of sites are needed to conclude about the impact of *Miscanthus* on soil quality at contaminated and/or un-contaminated sites.

## Keywords

*Miscanthus × giganteus*, Marginal Land, Soil quality, Earthworm communities, Soil structure

## Highlights

- Soil quality under *Miscanthus × giganteus* was site specific and influenced by previous land use.
- At a non-polluted marginal site (previously used as a meadow), *Miscanthus × giganteus* had a negative effect on soil biology and structure compared with an undisturbed area.
- Soil quality under *Miscanthus × giganteus* was similar when it was grown at an agricultural site and at a non-polluted undisturbed meadow.

## 1. Introduction

To reduce the use of energy from non-renewable sources, the European Union is seeking to increase the proportion of biomass used in energy production (European Commission, 2016). This has led to an increase in the use of agricultural land for bioenergy crop cultivation, which is, at a large-scale, considered unsustainable due to competition with food production. A potential solution is to grow energy crops on inaccessible and/or degraded (e.g. polluted) marginal lands (Gerwin et al., 2018) which are not economically profitable for traditional agriculture (Shortall, 2013). A limited number of studies have assessed the impact of using marginal land for cultivating energy crops and two studies have suggested that it can have a negative impact on biodiversity (Dauber et al., 2015, Guzman et al., 2019). However, a wider assessment of the environmental and ecological impacts of energy crop production is required to enhance sustainability of the sector (Firbank, 2008, Byrne and Stone, 2011).

Soil quality, which is commonly defined as “the capacity of a soil to function within ecosystem and land-use boundaries to sustain biological productivity, maintain environmental quality, and promote plant and animal health” (Doran and Parkin, 1994, Bünemann et al., 2018, Doran and Parkin, 1997), is influenced by natural and human-induced processes (Stott et al., 2010) predominantly related to land use, climate and geological substrate (Bünemann et al., 2018). Soil degradation has led to erosion of 12.7% and critical compaction of 23% of European soils and increased intensity in land use has led to a decrease in soil biodiversity including, for example, a decrease in species richness of earthworms, springtails and mites (Agency, 2019). Soil provides many ecosystem services, which are strongly related to its quality (Bünemann et al., 2018). A reduction in the provision of ecosystem services can negatively affect water and air quality, and climate change (Commission of the European Communities, 2006) and may increase risks to human health, especially when the soil is polluted (Bünemann et al., 2018) or when food safety is threatened (Commission of the European Communities, 2006). Soil quality degradation may also have large-scale socio-economic impacts and therefore requires monitoring and promotion of sustainable management practices.

Several studies have highlighted the importance of evaluating a combination of physical, chemical and biological parameters to obtain a holistic view of soil quality (Zornoza et al., 2015, Stauffer et al., 2014). Chemical and physical indicators of soil quality are well established (Kibblewhite et al., 2008a) and include organic matter, pH, available phosphorus, contamination, water storage, bulk density and aggregate stability (Bünemann et al., 2018). More recently, studies have also highlighted the importance of biological parameters as soil organisms contribute directly to many ecosystem services (Stauffer et al., 2014) and may respond more rapidly than physico-chemical parameters to natural and anthropogenic impacts (Kibblewhite et al., 2008a). The importance and relevance of earthworms and

microorganisms as bioindicators is also now widely recognised (Pérès et al., 2011, Bispo et al., 2009a, Griffiths et al., 2016).

*Miscanthus × giganteus* (hereafter called *Miscanthus*) production has a broad range of environmental benefits (Emmerling et al., 2017) as it has low fertilizer and weed control requirements, long growth periods (10 to 25 years) and no-till cultivation (Lewandowski et al., 2000). Several studies have also highlighted the potential ecosystem services provided by *Miscanthus* (Littlejohn et al., 2019, Emmerling and Pude, 2017, Nsanganwimana et al., 2014) including the ability to increase soil organic carbon stocks (Chimento et al., 2016) and decrease bio-availability of metals through accumulation in the rhizosphere in polluted sites (Al Souki et al., 2017). Therefore, *Miscanthus* cultivation is considered suitable for inaccessible and/or degraded marginal lands (Nsanganwimana et al., 2014, Xue et al., 2016, Feng et al., 2017). Das et al. (2016) suggested that water stable aggregates were higher under *Miscanthus* than under other perennial crops and it may also increase microbial diversity and activity (Bourgeois et al., 2015b). In addition, Felten and Emmerling (2011) observed an increase in the diversity of earthworm communities in *Miscanthus* compared with annual crops but these positive effects were not observed when compared to meadow (Felten and Emmerling, 2011, Zatta et al., 2014). Furthermore, Hedde and co-workers (Hedde et al., 2013b, Hedde et al., 2012, Hedde et al., 2013a) have shown that transition from food to *Miscanthus* crop on a polluted site increased abundance and diversity of soil invertebrates.

Previous *Miscanthus*-based studies have focused on a restricted number of soil quality indicators considered separately. However, there is increased importance being placed on using a multi-parameter approach to accurately assess an overview of soil chemical, physical and biological quality (Obriot et al., 2016). Our study, part of the “Biomass For the Future” project (BFF, ANR 11-BTBR-0006), sought to assess the effect of *Miscanthus* on soil quality of two marginal sites, using a multi-parameter approach comparing chemical (pH, bioavailability of inorganic pollutants), physical (bulk density, aggregate stability), and biological (microbial biomass, earthworm communities) soil properties in *Miscanthus* fields with adjacent undisturbed meadow. A *Miscanthus* crop on an arable field was also utilised as a reference site.

## 2. Material and Methods

### 2.1 Study sites

Two marginal lands, Marne et Gondoire (MG) and Chanteloup (CH), and an agricultural site (Bioferme (BF)), were investigated in this study (Table 1).

## Chapitre 2.1

MG is close to a highway, on which embankments have been laid and with restricted access. CH is polluted with metal trace elements and organic pollutants (Baize, 2003) and was used during the 20<sup>th</sup> century for spreading raw sewage from Paris and cultivated as a market garden until 2000.

MG and CH had not been cultivated since the early 2000's and therefore *Miscanthus* was planted on an established meadow and at BF on a field previously cultivated with barley.

At all sites, an experimental plot of 160 m<sup>2</sup> was planted with *Miscanthus* rhizomes in 2013 (at a density of 1.5 rhizome m<sup>-2</sup>). The soil was ploughed before rhizome implantation and during the first year herbicide was applied (Roundup) combined with mechanical weeding. *Miscanthus* was harvested annually in late winter, leaving stubble and leaf litter in the field. In 2018 (5 years after planting), there was a wide variation in *Miscanthus* yields between the three sites with a high potential yield of 20.5 t ha<sup>-1</sup> at MG, a medium potential yield of 14.8 t ha<sup>-1</sup> at BF and a low potential yield of 2.1 t ha<sup>-1</sup> at CH (Loyce et al., 2018). on the marginal sites, undisturbed meadow approximately 10 m away from the *Miscanthus* plot was sampled as an intra-site control.

**Table 1:** GPS coordinates, elevation (m), annual 30-year average rainfall, soil type, soil texture , clay, silt, sand, organic C content (C<sub>org</sub>) and pH from 2013 at BF (Bioferme), MG (Marne et Gondoire) and CH (Chanteloup) sites.

Site	Unit	BF	MG	CH
<b>GPS coordinates</b>	( )	48°21'8.08"N; 3°1'24.98"E	48°50'57.96"N; 2°39'43.62"E	48°57'44.86"N; 2°2'8.03"E
<b>Elevation</b>	(m)	75	95	45
<b>Annual 30-year average rainfall</b>	(mm)	677	694	638
<b>Soil type<sup>a</sup></b>	( )	Cambisol	Luvisol	Fluvisol
<b>Texture</b>	( )	silty clay loam	silty clay loam	loamy sand
<b>Clay</b>	(%)	27	28	7
<b>Silt</b>	(%)	56	56	8
<b>Sand</b>	(%)	17	17	85
<b>C<sub>org</sub> (0-30 cm)</b>	(g kg <sup>-1</sup> )	10.0	11.2	38.9
<b>pH<sub>H2O</sub></b>	( )	8.11	8.25	7.84

<sup>a</sup> according to the world reference base for soil resources (IUSS Working Group, 2015).

## 2.2 Sampling and analysis

Sampling at CH, MG and BF took place in November 2017. The sampling protocol and procedure followed recommendations from the European programme ENVASSO (Bispo et al., 2007, Kibblewhite et al., 2008a) and a previous framework from the national programmes Bioindicator (Pérès et al., 2011) and RMQS Biodiv (Cluzeau et al., 2012). In *Miscanthus* and undisturbed meadow plots three blocks (12 m<sup>2</sup> i.e. 5 m \* 2.4 m) were randomly delimited. Within each block, four sampling points were selected in a randomised design to perform the following: (i) earthworm community assessment, (ii) soil sampling for bulk density measurements, and (iii) soil sampling for aggregate stability analysis. In addition, 10 randomly selected soil cores (6.5 cm diameter, 20 cm depth) were taken from each block and combined as a composite sample for chemical and microbial biomass analyses.

### 2.2.1 Soil chemical properties

Soil core samples were stored at 4 °C and air dried before analyses were performed. The pH (measured in water), total organic C (g kg<sup>-1</sup>) and total N (g kg<sup>-1</sup>) content of soils were determined according to NF ISO 10694 (1995) and NF ISO 13878 (1998) respectively.

Total metal trace elements (MTE) concentrations (Cr, Co, Ni, Cu, Zn, Cd and Pb) were determined by Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy (ICP-MS) (X Series, Thermo Electron Corporation) performed after nitric acid (HNO<sub>3</sub>, 70%) digestion according to EPA method 3051A (2007) using a microwave (Ethos EZ, Microwave digestion system, Milestone).

In addition, metal availability in soil samples was determined using an ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA, C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) methodology recommended by MAFF (1986). The same analyses were carried out on 5 samples of standard CRM 483 reference material purchased from the European Commission (Geel, Belgium). After extraction, EDTA-extractable metal concentrations in solution were determined by Optical Emission Spectrometry (ICP-OES, Thermo Scientific, iCAP 7000 Series ICP Spectrophotometer). For each element, the mobility factor adapted from Salbu et al. (1998) was calculated on the basis of the following equation:

$$\text{Mobility factor} = \frac{\text{Mobile fraction extracted with EDTA (mg kg}^{-1}\text{)}}{\text{Total fraction extracted with nitric acid (mg kg}^{-1}\text{)}} \times 100$$

The percentage of extractable element was used as a proxy of phytostabilization ability of *Miscanthus*.

### 2.2.2 Soil biological analysis

#### 2.2.2.1 Microbial biomass

Soil microbial biomass carbon content (MBC, mg kg<sup>-1</sup>) was measured from composite soil samples frozen immediately after collection. MBC was measured using a fumigation-extraction method (Vance et al., 1987). MBC was estimated as organic C extracted in fumigated samples minus organic C extracted in non-fumigated samples. Extractable C was measured using a Total Organic Carbon Analyzer (OI Analytical – 1010). An extraction coefficient of 0.45 was used as the method was based on UV-persulfate extraction (Wu et al., 1990). The C<sub>mic</sub>-to-C<sub>org</sub> ratio was calculated as percentage of MBC content in total organic C following Anderson et al. (1989).

#### 2.2.2.2 Earthworm community

The earthworm sampling methodology was adapted from the ISO 23611-1 standard (2006). A block of soil (25 x 25 x 25 cm) was extracted and hand-sorted for earthworms. 500 ml of mustard solution (30 g L<sup>-1</sup> according to The Participatory Earthworm Observatory of EcoBioSoil from Rennes 1 University, France) was applied in the hole and any emerging earthworms retrieved over a 20-minute period. Collected earthworms were preserved in 4% formalin solution prior to identification in the laboratory using Bouché's key (1972), and individual masses recorded. For each sampling point, the number of earthworms sorted manually was added to the number of earthworms extracted with mustard. When identification of juveniles to species level was not possible (approx. 25% of time) individuals were first assigned to genus before allocated to species based on the proportion of adults present at each site. Earthworm abundance (individuals m<sup>-2</sup>), biomass (g m<sup>-2</sup>), functional structure based on ecological groups (anecic, endogeic and epigeic) (Bouché, 1977) and specific structure (species richness, Shannon diversity index and evenness) were used to describe communities.

### 2.2.3 Soil physical properties

Bulk density was measured (g cm<sup>-3</sup>) according to ISO 11272 (2017). In each block, four horizontal soil cores were collected with a metal corer (diameter 5 cm; height 5 cm) from the side of the earthworm sampling pit at a depth of 0-10 cm.

To assess aggregate stability, four soil samples were collected randomly in each block from a depth of 0-10 cm with a spade and combined. This depth was selected as the upper 10 cm of soil is the most exposed to crusting and erosion by rainfall and is in the range of depths sampled in other studies (e.g. Bottinelli et al. (2017) and Kraemer et al. (2019)). Aggregate stability was measured using Le Bissonnais' method (1996) with calibrated and air-dried aggregate samples (3-5 mm). Slaking due to fast wetting



was performed as this test is related to land use (Viaud et al., 2018). After treatment, the fragmented samples were dried (40°C) and passed through six different sieves with apertures ranging from 0.05 to 2 mm and the mean weight diameter (MWD) of aggregates calculated as follows:

$$\text{MWD} = \sum w_i * x_i$$

Where  $i$  corresponds to each fraction collected in each sieve,  $w_i$  is the dry weight of the fraction collected relative to the total soil used and  $x_i$  (mm) is the mean diameter of the fraction collected.

### 2.3 Statistical analysis

For all variables, statistical analyses were performed (using XLSTAT (2014) software) to compare results from undisturbed meadow and *Miscanthus* plots at MG and CH sites. Comparisons between sites were not conducted due to differences in soil type and contamination level.

For chemical and microbial variables from composite samples and for aggregate stability, the effect of treatment (undisturbed meadow vs *Miscanthus*) was tested at MG and CH using a non-parametric Mann Whitney U test (0.05% significance level) which allows a comparative bi-modal approach for the small sample size ( $n=3$ ).

For bulk density and earthworm community (abundance, biomass, species richness, Shannon index and evenness) ( $n=12$ ), the normality of sample distributions was tested using the Shapiro-Wilk test. When the assumption of normality was not validated a Mann Whitney U test was performed at MG and CH. When normality and equality of variances (Levenes Test) were validated, a Student Two Sample T-Test was performed.

## 3. Results

### 3.1 Soil chemical properties

There was no significant difference ( $p > 0.05$ ) and no consistent trend in  $C_{org}$ ,  $N_{tot}$ , C:N ratio and pH between undisturbed meadow and *Miscanthus* treatments at MG and CH sites (Table 2).

#### 3.1.1 Metal trace elements

##### 3.1.1.1 Total metal trace elements

No significant difference in total metal trace element concentrations was observed between *Miscanthus* and undisturbed meadow treatments at MG and CH sites (Table 3). However, at CH total

## Chapitre 2.1

MTE concentrations were between 169% (Cu,  $276.6 \pm 153.4$  vs  $102.8 \pm 21.3$  mg kg<sup>-1</sup>) and 283% (Cd,  $6.9 \pm 4.1$  vs  $1.8 \pm 0.5$  mg kg<sup>-1</sup>) higher in Miscanthus than undisturbed meadow with  $p = 0.1$  for Cu, Zn, Cd and Pb (Table 4). The results from the CH site were superior to those of BF and MG, where concentrations were in the same order of magnitude.

### 3.1.1.2 Available metal trace elements and mobility factor

There was no significant difference in available MTE concentrations (Table 3) between undisturbed meadow and Miscanthus treatments at MG and CH sites (Table 4) and the results from the BF site were of the same order of magnitude as those from MG (Table 3).

Similarly, no significant differences were recorded in mobility factor (Table 3) between undisturbed meadow and Miscanthus treatments at MG and CH sites (Table 4). However, at CH, for all MTEs lower values of mobility factor were observed in the Miscanthus compared to undisturbed meadow: results were between 47% (Cu,  $89.3 \pm 5.9$  vs  $47.6 \pm 23.8$ %) to 86% (Cr,  $9.5 \pm 1.0$  vs  $1.3 \pm 1.2$ %) lower in the Miscanthus treatment with  $p = 0.1$  for all studied MTEs. In Miscanthus plots mobility factors at BF were closer in magnitude to MG than to CH.

Chapitre 2.1

**Table 2:** Soil quality indicators (mean  $\pm$  standard deviation) of BF (Bioferme), MG (Marne et Gondoire) and CH (Chanteloup) sites. Superscript letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between undisturbed meadow and Miscanthus treatments.

<i>Indicators</i>	Unit	BF	MG		CH	
		<i>Miscanthus</i>	<i>Undisturbed meadow</i>	<i>Miscanthus</i>	<i>Undisturbed meadow</i>	<i>Miscanthus</i>
<b><i>Chemical</i></b>						
C <sub>org</sub>	(g kg <sup>-1</sup> )	11.9 $\pm$ 0.9	17.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.3	12.9 <sup>a</sup> $\pm$ 1.1	25.1 <sup>a</sup> $\pm$ 4.9	33.5 <sup>a</sup> $\pm$ 3.6
N <sub>tot</sub>	(g kg <sup>-1</sup> )	1.1 $\pm$ 0.1	1.6 <sup>a</sup> $\pm$ 0.0	1.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.1	1.7 <sup>a</sup> $\pm$ 0.1	1.7 <sup>a</sup> $\pm$ 0.1
C:N	()	11.03 $\pm$ 0.32	10.53 <sup>a</sup> $\pm$ 0.06	10.33 <sup>a</sup> $\pm$ 0.42	15.00 <sup>a</sup> $\pm$ 0.12	19.93 <sup>a</sup> $\pm$ 1.16
pH	()	7.06 $\pm$ 0.20	6.92 <sup>a</sup> $\pm$ 0.43	7.38 <sup>a</sup> $\pm$ 0.25	7.52 <sup>a</sup> $\pm$ 0.06	7.51 <sup>a</sup> $\pm$ 0.13
<b><i>Biological</i></b>						
Microbial biomass	(mg C kg <sup>-1</sup> soil)	328 $\pm$ 36	527 <sup>a</sup> $\pm$ 68	324 <sup>a</sup> $\pm$ 46	172 <sup>a</sup> $\pm$ 18	120 <sup>a</sup> $\pm$ 3
C <sub>mic-to-C<sub>org</sub></sub>	(%)	2.76 $\pm$ 0.22	3.05 <sup>a</sup> $\pm$ 0.35	2.51 <sup>a</sup> $\pm$ 0.33	0.68 <sup>a</sup> $\pm$ 0.06	0.36 <sup>a</sup> $\pm$ 0.05
Earthworm						
Species richness	(species m <sup>-2</sup> )	3.6 $\pm$ 1.0	6.1 <sup>a</sup> $\pm$ 1.3	3.2 <sup>b</sup> $\pm$ 1.8	0.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.3	0.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.7
Evenness	()	0.86 $\pm$ 0.14	0.85 <sup>a</sup> $\pm$ 0.05	0.77 <sup>b</sup> $\pm$ 0.36	0.00 <sup>a</sup> $\pm$ 0.00	0.08 <sup>a</sup> $\pm$ 0.29
Shannon index	()	1.57 $\pm$ 0.42	2.18 <sup>a</sup> $\pm$ 0.27	1.35 <sup>b</sup> $\pm$ 0.80	0.00 <sup>a</sup> $\pm$ 0.00	0.08 <sup>a</sup> $\pm$ 0.29
<b><i>Physical</i></b>						
Bulk density	(g cm <sup>-3</sup> )	1.59 $\pm$ 0.08	1.39 <sup>a</sup> $\pm$ 0.08	1.51 <sup>b</sup> $\pm$ 0.09	1.33 <sup>a</sup> $\pm$ 0.12	1.38 <sup>a</sup> $\pm$ 0.09
Aggregate stability						
Slaking (MWD)	(mm)	1.25 $\pm$ 0.28	0.90 <sup>a</sup> $\pm$ 0.17	0.77 <sup>a</sup> $\pm$ 0.18	0.57 <sup>a</sup> $\pm$ 0.06	0.50 <sup>a</sup> $\pm$ 0.03

Chapitre 2.1

**Table 3:** Total, available and mobility factor (means  $\pm$  standard deviation) of trace metal element (MTE) content (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn) under Miscanthus treatment at Bioferme (BF) and undisturbed meadow and Miscanthus treatments Marne et Gondoire (MG) and Chanteloup (CH) sites and reference values in Île-de-France. Superscript letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between undisturbed meadow and Miscanthus treatments.

Site	Cr		Ni		Cu		Zn		Cd		Pb	
	Undisturbed meadow	Miscanthus	Undisturbed Meadow	Miscanthus	Undisturbed meadow	Miscanthus	Undisturbed meadow	Miscanthus	Undisturbed meadow	Miscanthus	Undisturbed meadow	Miscanthus
<b>Total MTE (mg kg<sup>-1</sup>)</b>												
BF	-	48.4 $\pm$ 0.5	-	34.6 $\pm$ 1.1	-	19.2 $\pm$ 0.6	-	145.7 $\pm$ 50.7	-	0.4 $\pm$ 0.0	-	25.01 $\pm$ 0.3
MG	45.5 <sup>a</sup> $\pm$ 2.9	48.1 <sup>a</sup> $\pm$ 2.2	32.1 <sup>a</sup> $\pm$ 1.5	34.8 <sup>a</sup> $\pm$ 3.4	21.1 <sup>a</sup> $\pm$ 1.1	21.8 <sup>a</sup> $\pm$ 3.3	157.5 <sup>a</sup> $\pm$ 26.9	127.6 <sup>a</sup> $\pm$ 34.6	0.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.0	0.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.0	32.9 <sup>a</sup> $\pm$ 4.2	30.7 <sup>a</sup> $\pm$ 1.0
CH	36.2 <sup>a</sup> $\pm$ 5.6	112.6 <sup>a</sup> $\pm$ 77.8	20.1 <sup>a</sup> $\pm$ 4.7	54.3 <sup>a</sup> $\pm$ 24.7	102.8 <sup>a</sup> $\pm$ 21.3	276.6 <sup>a</sup> $\pm$ 153.4	303.7 <sup>a</sup> $\pm$ 118.2	1028.7 <sup>a</sup> $\pm$ 460.9	1.8 <sup>a</sup> $\pm$ 0.5	6.9 <sup>a</sup> $\pm$ 4.1	161.1 <sup>a</sup> $\pm$ 49.6	591.0 <sup>a</sup> $\pm$ 484.3
<b>Available MTE (mg kg<sup>-1</sup>)</b>												
BF	-	0.6 $\pm$ 0.0	-	5.2 $\pm$ 0.1	-	6.2 $\pm$ 0.2	-	4.0 $\pm$ 0.3	-	0.3 $\pm$ 0.0	-	11.3 $\pm$ 0.1
MG	0.9 <sup>a</sup> $\pm$ 0.1	0.6 <sup>a</sup> $\pm$ 0.2	3.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.1	3.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.45	8.6 <sup>a</sup> $\pm$ 0.45	7.6 <sup>a</sup> $\pm$ 0.9	6.9 <sup>a</sup> $\pm$ 0.4	5.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.7	0.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.0	0.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.1	17.4 <sup>a</sup> $\pm$ 2.9	15.4 <sup>a</sup> $\pm$ 2.4
CH	3.4 <sup>a</sup> $\pm$ 0.2	1.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.56	4.0 <sup>a</sup> $\pm$ 0.9	3.8 <sup>a</sup> $\pm$ 1.2	91.1 <sup>a</sup> $\pm$ 13.8	112.5 <sup>a</sup> $\pm$ 25.5	171.5 <sup>a</sup> $\pm$ 52.2	253.1 <sup>a</sup> $\pm$ 48.4	1.8 <sup>a</sup> $\pm$ 0.2	2.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.4	125.3 <sup>a</sup> $\pm$ 38.1	146.3 <sup>a</sup> $\pm$ 55.4
<b>Mobility factor (%)</b>												
BF	-	1.3 $\pm$ 0.1	-	15.0 $\pm$ 0.5	-	32.1 $\pm$ 0.1	-	3.0 $\pm$ 0.9	-	72.7 $\pm$ 2.7	-	45.0 $\pm$ 0.6
MG	2.0 <sup>a</sup> $\pm$ 0.3	1.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.5	10.9 <sup>a</sup> $\pm$ 0.2	9.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.9	40.8 <sup>a</sup> $\pm$ 2.4	35.3 <sup>a</sup> $\pm$ 3.1	4.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.9	4.3 <sup>a</sup> $\pm$ 1.1	89.3 <sup>a</sup> $\pm$ 7.8	18.5	53.0 <sup>a</sup> $\pm$ 4.4	50.2 <sup>a</sup> $\pm$ 9.2
CH	9.5 <sup>a</sup> $\pm$ 1.0	1.3 <sup>a</sup> $\pm$ 1.2	20.1 <sup>a</sup> $\pm$ 2.9	7.7 <sup>a</sup> $\pm$ 3.5	89.3 <sup>a</sup> $\pm$ 5.9	23.8	57.6 <sup>a</sup> $\pm$ 4.6	12.5	102.4 <sup>a</sup> $\pm$ 20.2	19.3	77.9 <sup>a</sup> $\pm$ 3.7	22.9
<b>Suggested reference values of MTE (mg kg<sup>-1</sup>) from Mathieu et al. [59]</b>												
Agricultural soil of Ile de France (P95)	65.2		31.2		28.0		88.0		0.51		53.7	

## 3.2 Soil biological properties

### 3.2.1 Microbial biomass

MG exhibited numerically higher MBC values in undisturbed meadow ( $527 \pm 68 \text{ mg C kg}^{-1} \text{ soil}$ ) than under *Miscanthus* ( $324 \pm 46 \text{ mg C kg}^{-1}$ ) and this trend was also observed at CH with  $172 \pm 18$  and  $120 \pm 3 \text{ mg C kg}^{-1}$  in undisturbed meadow and *Miscanthus* treatments respectively ( $p = 0.1$ ). At BF, recorded MBC values ( $328 \pm 36 \text{ mg C kg}^{-1}$ ) were similar to the MG *Miscanthus* treatment.

Results for  $C_{\text{mic-to-C}_{\text{org}}}$  ratio exhibited similar trends, there was no significant difference between treatments and values were 21% and 89% higher in undisturbed meadow than *Miscanthus* plots at MG and CH respectively. At BF the *Miscanthus* treatment had a  $C_{\text{mic-to-C}_{\text{org}}}$  ratio ( $2.76 \pm 0.22\%$ ) that was similar in value to the MG *Miscanthus* treatment.

### 3.2.2 Earthworms communities

#### 3.2.2.1 Abundance and biomass

At the MG site, earthworm abundance was significantly lower in *Miscanthus* than in the undisturbed meadow ( $108 \pm 32$  vs  $397 \pm 70 \text{ ind m}^{-2}$  respectively,  $p < 0.001$ ) and biomass was also significantly lower ( $35 \pm 14$  vs  $114 \pm 19 \text{ g m}^{-2}$  respectively,  $p < 0.001$ ). In contrast, at CH, no significant differences ( $p > 0.05$ ) in earthworm abundance or biomass were recorded (figure 5 and 6). However, it is important to note that at CH, a low number of individuals were collected ( $1 \pm 2$  and  $9 \pm 6 \text{ ind m}^{-2}$  for undisturbed meadow and *Miscanthus* treatments respectively). At BF earthworm abundance ( $129 \pm 50 \text{ ind m}^{-2}$ ) and biomass ( $48 \pm 32 \text{ g m}^{-2}$ ) were similar to values recorded in the MG *Miscanthus* treatment.

#### 3.2.2.2 Functional structure

At the MG site, abundance of epigeic ( $p = 0.0002$ ), anecic ( $p = 0.0019$ ) and endogeic ( $p < 0.0001$ ) earthworm species were significantly higher in undisturbed meadow treatments (figure 5). Earthworm communities were dominated by endogeic species (figure 5) representing 79% and 86% of the community in undisturbed meadow and *Miscanthus* treatments respectively, *Miscanthus* hosting 70% less of endogeic species than undisturbed meadow ( $93 \pm 56 \text{ ind m}^{-2}$  vs  $315 \pm 107 \text{ ind m}^{-2}$ ). Anecics only represented 12% ( $47 \pm 30 \text{ ind m}^{-2}$ ) of earthworm community in undisturbed meadow and 9% ( $9 \pm 14 \text{ ind m}^{-2}$ ) in *Miscanthus* and a huge difference was observed between treatments as *Miscanthus* presents 81% less of anecic than undisturbed meadow. Epigeic values were even lower, representing 9% of earthworm community in undisturbed meadow and 5% in *Miscanthus* treatments, and again *Miscanthus* hosting very low abundance (86% less,  $5 \pm 3 \text{ ind m}^{-2}$  vs  $36 \pm 18 \text{ ind m}^{-2}$ ).

## Chapitre 2.1

At the CH site, the few individuals collected were predominantly anecics ( $1 \pm 5$  ind  $m^{-2}$  and  $8 \pm 11$  ind  $m^{-2}$  in undisturbed meadow and *Miscanthus* treatments respectively) with no significant difference between treatments.

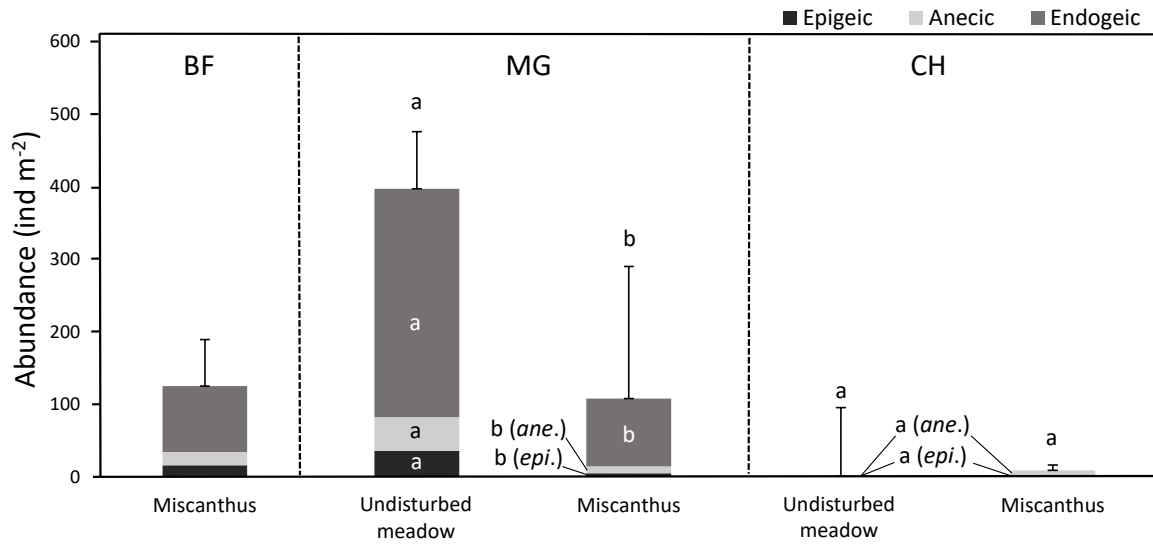
Functional structure of earthworms under *Miscanthus* at BF was similar to MG and characterized by dominance of endogeic species which represented 70% ( $91 \pm 41$  ind  $m^{-2}$ ) of the community.

### 3.2.2.3 Species richness, evenness & Shannon diversity index

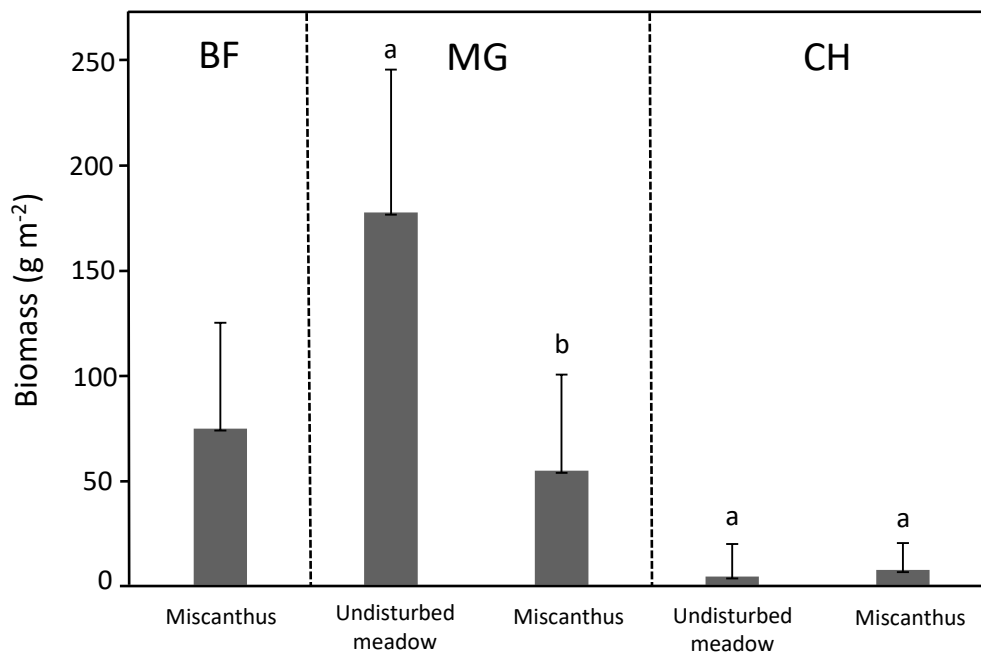
At the MG site, a total of 9 species (lists of species recorded in each treatment are provided in table 31 of appendix 2) were recorded corresponding to a mean of  $6.1 \pm 1.3$  and  $3.2 \pm 1.8$  species  $m^{-2}$  (table 2,  $p = 0.001$ ) in the undisturbed meadow and *Miscanthus* treatments respectively. The community structures were more or less the same in both treatments: communities were dominated by endogeic species with *Aporrectodea c. caliginosa typica* (36 % abundance in both treatments) and *Allolobophora icterica* (30 and 25% abundance in undisturbed meadow and *Miscanthus* treatments respectively). In the undisturbed meadow treatment, the epigeic species *Lumbricus castaneus* represented 9% of the community and the anecic species *Aporrectodea giardi* represented 8% compared with 4% for both species in the *Miscanthus* treatment. Evenness ( $p = 0.046$ ) and Shannon index ( $p = 0.004$ ) scores were significantly higher in the undisturbed meadow treatment. For most species, mean abundance was lower under *Miscanthus* than undisturbed meadow, especially for *A. icterica* (76% lower), *A. c. caliginosa typica* (70% lower), *Allolobophora rosea rosea* (71% lower), *A. giardi* (87% lower) and *L. castaneus* (86% lower), with the exception of *Allolobophora minima* which had a similar density (12 ind  $m^{-2}$ ) in both treatments.

At the CH site, only one species (*Lumbricus terrestris*) was found in undisturbed meadow and two (*L. terrestris* and *L. castaneus*) in *Miscanthus* treatments providing mean evenness scores of 0 and  $0.08 \pm 0.29$  respectively.

A total of seven species, with a mean of  $3.6 \pm 1.0$  species  $m^{-2}$ , were found in the BF *Miscanthus* treatment, which is similar to results for *Miscanthus* at the MG site. The community at the *Miscanthus* BF site was dominated by the endogeic *A. icterica* (47%), anecics were represented by *A. giardi* (13%) and *L. castaneus* was the only epigeic species (12%). The evenness index was  $0.86 \pm 0.14$  and the Shannon index had a value of  $1.57 \pm 0.42$  at this site.



**Figure 5:** Total earthworm abundance and abundance of earthworm ecological categories (means and standard deviation) at BF (Bioferme), MG (Marne et Gondoire) and CH (Chanteloup) sites. Different letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) in total and ecological category between treatments at the same site.



**Figure 6:** Total earthworm biomass (means and standard deviation) at BF (Bioferme), MG (Marne et Gondoire) and CH (Chanteloup) sites. Different letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between treatments at the same site.

### **3.3 Soil physical properties**

#### *3.3.1 Bulk density*

Bulk density (table 2) was significantly higher ( $p = 0.004$ ) in the Miscanthus treatment than in the adjacent undisturbed meadow treatment at MG and no significant difference was observed at the CH site. Comparing the three sites, the highest bulk density value ( $1.59 \text{ g cm}^{-3}$ ) was found in the Miscanthus treatment at BF with the lowest values ( $1.33$  and  $1.38 \text{ g cm}^{-3}$ ) recorded in undisturbed meadow and Miscanthus treatments respectively at CH.

#### *3.3.2 Aggregate stability*

At MG and CH, no significant differences in aggregate stability were found between undisturbed meadow and Miscanthus treatments (table 3). However, based on Le Bissonais's classification (Le Bissonais, 1996), aggregate stability was medium under the BF Miscanthus treatment ( $1.25 \pm 0.28$  mm) and MG undisturbed meadow treatment ( $0.9 \pm 0.17$  mm), and low under the MG Miscanthus treatment ( $0.77 \pm 0.18$  mm) and both treatments at the CH site.



**Table 4:** P-values (undisturbed meadow vs Miscanthus) of chemical, biological and physical parameters at MG (Marne & Gondoire) and CH (Chanteloup) sites. Significant effects ( $p < 0.05$ ) are given in bold. MTE: metal trace element.

	MG	CH
<b><i>Chemical</i></b>		
C <sub>org</sub>	0.077	0.100
N <sub>tot</sub>	0.100	1.000
C:N	0.658	0.100
pH	0.383	0.663
<u>Total MTE</u>		
Cr	0.100	0.663
Ni	0.100	1.000
Cu	1.000	0.100
Zn	0.383	0.100
Cd	0.383	0.100
Pb	0.663	0.100
<u>Available MTE</u>		
Cr	0.100	0.100
Ni	1.000	1.000
Cu	0.383	0.383
Zn	0.100	0.190
Cd	0.100	0.100
Pb	1.000	0.663
<u>Mobility factor of MTE</u>		
Cr	0.190	0.100
Ni	0.100	0.100
Cu	0.190	0.100
Zn	1.000	0.100
Cd	0.190	0.100
Pb	1.000	0.100
Average	0.190	0.100
<b><i>Biological</i></b>		
Microbial biomass	0.100	0.100
C <sub>mic</sub> -to-C <sub>org</sub>	0.190	0.100
<u>Earthworm</u>		
Total abundance	< <b>0.0001</b>	0.062
Abundance of epigeic	< <b>0.0002</b>	0.359
Abundance of anecic	<b>0.002</b>	0.066
Abundance of endogeic	< <b>0.0001</b>	NA
Total biomass	< <b>0.0003</b>	0.111
Species richness	<b>0.001</b>	0.066
Evenness	<b>0.046</b>	0.359
Shannon index	<b>0.004</b>	0.359
<b><i>Physical</i></b>		
Bulk density	<b>0.004</b>	0.278
<u>Aggregate stability</u>		
Fast wetting	0.383	0.190

## 4. Discussion

This study sought to assess soil quality under *Miscanthus* crops following a 5-year establishment phase at three different sites which differed in soil type, contamination levels and previous land use. Although differences between undisturbed meadow and *Miscanthus* treatments were only significant for earthworm community and bulk density, recorded trends were so pronounced and conflicting that it is relevant to discuss them and such discussions are considered of particular merit when recorded *p*-values are less than or equal to 0.1 as suggested by Webster (2007).

### 4.1 Soil contamination under *Miscanthus*

In order to assess the level of contamination we used values proposed by Mathieu et al. (2008), which correspond to the 95<sup>th</sup> percentile of ploughed horizons of cultivated soils in the Île-de-France region and provided standardised “normal” concentrations of a given element in agricultural soils. The spatial concordance between this work and our study (Île-de-France) reinforced the relevance of these values compared to those usually used at national scale (Villanneau et al., 2008). This approach is also frequently adopted by French contaminated land managers (Baize, 2009).

At both treatments of the MG site and at the *Miscanthus* treatment of the BF site, with the exception of Zn and Ni, total MTE concentrations measured in 2017 (table 2) are below threshold values proposed by Mathieu et al. (2008). Therefore, BF and MG are considered contaminated sites in respect of Ni and Zn concentrations. However, contamination levels could be considered as relatively low, because i) Ni concentrations are close to reference values and ii) values for Ni and Zn do not exceed French threshold values recommended by Villanneau et al. (2008). In addition, although these sites are considered contaminated, they are not classified as polluted because no negative effects of this contamination have been observed on any compartment of the agro-ecosystem (Mathieu et al., 2008). In contrast, at the CH site all MTE concentrations exceed threshold values in the *Miscanthus* treatment with values between 73% (Cr, 112.6 vs 65.2 mg kg<sup>-1</sup>) and 1250% (Cd, 6.90 vs 0.51 mg kg<sup>-1</sup>) higher than the reference values suggested by Mathieu et al. (2008) confirming site contamination. Moreover, CH is designated as a polluted site with MTE content considered sufficiently bioavailable to have negative impacts on soil function or land use (Mathieu et al., 2008).

At MG, no differences in total MTE between *Miscanthus* and undisturbed meadow treatments was observed suggesting that at this level of contamination *Miscanthus* has no detectable effect on mitigating soil MTE contamination. Although there is no significant difference between treatments at

the polluted CH site, total MTE levels were 220% higher at the Miscanthus treatment with  $p = 0.1$  for Cu, Zn, Cd, Pb. Due to the high variability of the results it is not possible to conclude on the origin of this difference which could be caused by heterogeneous spreading of raw sewage prior to experimental set-up. However, these trends are in accordance with studies that have highlighted the ability of Miscanthus to reduce vertical mobility of MTE and enhanced accumulation in the soil surface horizon (Nsanganwimana et al., 2014, Al Souki et al., 2017).

The polluted site (CH) also presented the highest MTE EDTA extractable concentration which is consistent with receiving large exogenous input of metals via the spreading of sewage sludge (Hernández et al., 1991, Sanders et al., 1986, Protano et al., 2020). The mobility factor data provides an assessment of the potential of Miscanthus to stabilize MTE. Indeed, all physico-chemical properties being equal, if the mobility factor is lower in the Miscanthus treatment compared to the undisturbed meadow treatment it can be assumed that Miscanthus has a better capacity to stabilize metals than vegetation already present on the site. At the polluted site, although there was no significant difference between treatments, mobility factor results suggest that metals tend to be less extractable in Miscanthus than in adjacent undisturbed meadow areas and therefore less phytoavailable, with  $p = 0.1$  for all studied metals (table 4). This observation is in line with previous studies which have highlighted the ability of Miscanthus to reduce availability of MTE (Nsanganwimana et al., 2014) due to accumulation of metals in the rhizosphere (Al Souki et al., 2017). However, it is recognised that phytoavailability is affected by soil characteristics, such as increased organic matter content which can have a negative effect (Farrag et al., 2012). Iqbal et al. (2013) suggested that one of the main parameters inducing changes in metal speciation is incorporation of organic matter (Iqbal et al., 2013, Elliott et al., 1986, Qasim, 2015). Therefore, at the polluted CH site, the lower availability of metals in the Miscanthus treatment may be explained by the combined effect of organic matter addition and phytostabilization.

## **4.2 Soil biology under Miscanthus**

### *4.2.1 Microbial Biomass Carbon*

The MBC values observed in this study were in the range published for meadow by Cluzeau et al. (2012) (326.5 and 465.0 mg C kg<sup>-1</sup> for lower baseline and average respectively) in both treatments at MG and in Miscanthus at BF while at the polluted site (CH), MBC values were lower despite the large amount of C<sub>org</sub>. It is suggested that these low results are directly related to the high sand content of the soil

(GIS Sol, 2011) and the presence of organic pollutants (Baize, 2003) associated with high MTE concentrations inhibiting microbial biomass (Paul, 2014, Xu et al., 2019, Song et al., 2018, Wardle, 1992). Indeed, these results are consistent with Adriano and Weber (2001), who indicated that excessive application of zinc-contaminated sludge can lead to a decrease in microbial activity, and Brookes and Mc Grath (1984), who demonstrated that soils amended with sewage sludge contaminated with a range of heavy metals substantially reduced levels of MBC, even twenty years after sludge application.

Regarding the effect of *Miscanthus* in the two marginal sites, MBC tend to be 40 and 30% lower under *Miscanthus* soils ( $p=0.1$ ) compared to the undisturbed meadow, at MG and CH sites respectively. These results are in accordance with Ruf et al. (2018b) who registered higher MBC results under permanent meadow than under perennial energy crops. In addition, the  $C_{mic}$ -to- $C_{org}$  ratio values, which is generally considered an index of microbial activity (Serna-Chavez et al., 2013), were either within or above the range of 0.6–2.0% for arable soils (Emmerling et al., 2017) for *Miscanthus* at both sites. This was not the case in *Miscanthus* at the polluted site which, in addition to having high MTE content, had a relatively high  $N_{tot}$  content which is considered one of the main negative influences on  $C_{mic}$ -to- $C_{org}$  ratio (Serna-Chavez et al., 2013). Moreover, a positive and significant correlation between MBC results and  $C_{org}$  content (Pearson correlation coefficient  $r = 0.9200$ ,  $p = 0.0093$ ) were found at MG which is consistent with other studies (Viaud et al., 2018, Constancias et al., 2015, Velmourougane et al., 2014), but this link was not recorded at the other two locations.

### 4.2.2 Earthworms

In both treatments at the polluted site (CH), earthworm abundance, biomass and species richness results were below reference values suggested by Cluzeau et al. (2012). These results are consistent with Hedde et al. (2013a) who recorded an earthworm abundance of less than 4 ind  $m^{-2}$  in *Miscanthus* at a site with characteristics comparable to CH. These results are explained by the high levels of contamination at the site (Baker et al., 1998, Uwizeyimana et al., 2017) reinforced by the negative effect of a sandy soil (Baker et al., 1998, Singh et al., 2018, Lapied et al., 2009). Moreover, an unbalanced functional structure linked to the absence of endogeic species at CH was previously notified by Pérès et al. (2011) and explained by i) the location of endogeics directly in contact with metal pollutants, and (ii) the diet of endogeics which are geophagous and therefore ingest contaminated resources (Lee, 1985). In some contexts, soil management (fertilisation, reduction of tillage action) can moderate the impact of pollution (Kibblewhite et al., 2008a), but this was not possible in our study due to the high levels of contamination.

## Chapitre 2.1

At MG, the undisturbed meadow treatment exhibited earthworm abundance levels close to values recorded by Cluzeau et al. (2012) for meadow (350 ind m<sup>-2</sup>) while *Miscanthus* had abundance levels below the lower baseline value for meadow of 175 ind m<sup>-2</sup> (Cluzeau et al., 2012) but slightly higher than the lower baseline for crop (86 ind m<sup>-2</sup>, (Cluzeau et al., 2012)). In addition, biomass, functional structure (abundance of epigeic, anecic and endogeic species), and diversity (species richness, Shannon index and evenness) at MG were lower in the *Miscanthus* treatment. These results are in accordance with literature as it is commonly accepted that cropping has a negative impact on earthworm communities compared to meadow (Cluzeau et al., 2012). Our results are also consistent with Felten and Emmerling (2011) who reported higher earthworm abundance in a 20 year old fallow site (355 ± 43 ind m<sup>-2</sup>) than in a 15-year-old *Miscanthus* crop (132 ± 11 ind m<sup>-2</sup>).

Earthworm abundance in *Miscanthus* at BF (previously an annual barley crop) was similar to *Miscanthus* at MG and was below the lower baseline values for meadow (175 ind m<sup>-2</sup>, (Cluzeau et al., 2012)) but slightly higher than the lower baseline value for crops (86 ind m<sup>-2</sup> (Cluzeau et al., 2012)). Species richness was also below Brittany (France) reference values for both meadow and crops (8.5 and 6 respectively (Cluzeau et al., 2012)). Soil tillage is recognised as one of the major negative influences on earthworm communities (Kuntz et al., 2013, Chan, 2001) and particularly affects deep burrowing species (anecic) (Chan and Mead, 2003). Therefore, soil tillage during establishment of *Miscanthus* crops may have contributed to reduce earthworm abundance in the *Miscanthus* treatment, and explains the very low values of anecic species observed under *Miscanthus* at MG and BF sites. The recovery of earthworm communities is a slow process (Postma-Blaauw et al., 2010) that explains these results even five years after the establishment of the crop.

It is recognised that plant cover may enhance earthworm populations by reducing evaporation, buffering soil temperature and providing food and protection from predators (Emmerling et al., 2017). However, in our study, the presence of *Miscanthus* (and associated leaf litter) compared to the presence of grass (meadow) had no positive effect on earthworms. These results could be explained by the low nutritional value and palatability of *Miscanthus* litter, based on: a) high C:N ratio of *Miscanthus* residues, which can reach 300 (Le Guillou et al., 2012), b) the associated time taken to decompose *Miscanthus* leaf litter and c) the relatively large particle size of the litter (Bourgeois et al., 2015b) which strongly impacts earthworms especially anecic species (Boyle, 1990) and may explain significantly lower anecic abundance recorded in *Miscanthus* treatments at MG.

### **4.3 Effect of Miscanthus on soil structure**

#### *4.3.1 Bulk density*

At MG, lower bulk density results in the undisturbed meadow treatment may be attributed to higher biological activity, including burrowing by earthworms (Blouin et al., 2013). In addition, the annual use of machinery to harvest Miscanthus may increase compaction (Hargreaves et al., 2019) in the Miscanthus treatment.

At the polluted sandy site (CH), results for both treatments were lower than the threshold value, which is consistent with a recognition that soils rich in organic matter generally have lower bulk density (USDA, 2014), and no significant difference in bulk density was recorded between treatments.

While some studies reveal a decrease in bulk density after planting Miscanthus (Das et al., 2016, Kahle et al., 1999) others show an increase (Guzman et al., 2019), it is therefore difficult to establish with any certainty the effect of planting on this indicator. In the current study, soil bulk density was influenced by the history of the site and the type of land management (agricultural land or marginal land) more than by vegetation cover.

#### *4.3.2 Aggregate stability*

Five years of Miscanthus cultivation have not influenced soil aggregate stability at any of the sites. However, trends related to soil type, contamination levels, previous land use and characteristics of undisturbed meadow soil can be observed and discussed.

For sites with similar texture, such as BF and MG, it is organic matter content that mainly influences MWD results (Le Bissonnais, 1996). At these sites, values are close to those obtained (with the same method) from soils with the same texture and level of organic matter (Le Guillou et al., 2012, Le Bissonnais and Arrouays, 1997, Abiven et al., 2007). Organic matter promotes the development of microbial biomass, which is positively correlated with aggregate stability (Chenu and Cosentino, 2011) through the production of mucilages, polysaccharides (Gupta and Germida, 2015, Duchicela et al., 2013) and hydrophobic molecules (Jouany et al., 1992).

Results tend to be higher under Miscanthus at BF than MG and this may be explained by differences in biotic properties of the soil resulting from historical land use. The change from an annual intensively tilled crop to a perennial no-till and unfertilized Miscanthus crop combined with Miscanthus crop residues with a high C:N ratio (Le Guillou et al., 2012) and lignin content (Arnoult and Brancourt-Hulmel, 2015) left on the soil surface may have caused the development of fungi (Lauber et al., 2008).

Previous studies have suggested that mycelial hyphae are correlated to aggregate stability (Qasim, 2015) and increase resistance to slaking (Abiven et al., 2007). Results from the MG site suggest lower aggregate stability under *Miscanthus* than under non-polluted and non-compacted undisturbed meadow as reported in previous studies (Guzman et al., 2019, Emmerling et al., 2017). Moreover, our results are in accordance with Ruf et al. (2018b) who reported that 6-year-old perennial energy crops, including *Miscanthus × giganteus*, had aggregate stability values 57% lower than permanent meadows. This result could be attributed to biological soil quality indicators such as earthworm abundance ( $p < 0.0001$ ), earthworm biomass ( $p = 0.0002$ ) (Abiven et al., 2007, Chenu and Cosentino, 2011, Gupta and Germida, 2015, Duchicela et al., 2013) and MBC ( $p = 0.1$ ) which were lower under *Miscanthus* at this site.

In the sandy polluted site (CH), aggregate stability values were lower than recorded by Amezketa et al. (1996) in soil with a similar texture.  $C_{org}$  was 30% higher under *Miscanthus* but did not contribute to soil aggregation probably because of the low yield potential of this site ( $2.1 \text{ t ha}^{-1}$  in 2018 (Loyce et al., 2018)) resulting in lower root activity and exudates which are known to contribute to aggregate stability (Amezketa, 1999) and the inhibitory effect of metal concentrations on hyphal length density (Yang et al., 2018).

#### 4.4 Multi-parameter approach

The assessment of several indicators (biological, physical and chemical) allows an overview of soil quality. Results have suggested that the effect of *Miscanthus* on soil quality is site dependent, even at a regional scale and is related to the type of soil (texture, soil properties), the level of trace element contamination and previous land use.

In a previous meadow location with a silty clay loam texture and low levels of contamination (MG), undisturbed meadow has a better soil quality than under *Miscanthus* with results suggesting that soil quality is negatively impacted by *Miscanthus* cultivation (lower microbial biomass, reduced earthworm community, lower aggregate stability). These results are in accordance with Felten and Emmerling (2011) and Ruf et al. (2018a) who recorded higher biological quality and soil quality under uncultivated areas compared to *Miscanthus*. However, *Miscanthus* reached a high yield ( $20.5 \text{ t ha}^{-1}$  in 2018 (Loyce et al., 2018)) at this site which may be accounted for by high mineral nitrogen availability (Loyce et al., 2018) from grass returned to the soil and associated net nitrogen mineralization. In comparison, after an annual crop without any additional nitrogen fertilization (BF), *Miscanthus* achieved a lower yield in 2018 ( $14.8 \text{ t ha}^{-1}$  (Loyce et al., 2018)) even if still higher than the minimum reference value ( $10 \text{ t ha}^{-1}$ ) suggested by Lewandowski et al. (2000). However, growing unfertilized *Miscanthus* after a cereal crop

would have induced lower soil mineral nitrogen levels at the agricultural site (BF) which in turn would have encouraged the development of fungi and aggregate stability after the fast wetting test (Abiven et al., 2007, Bossuyt et al., 2001).

Additional studies employing a wider range of sites with similar soil properties are required to confirm the trends that have been observed. However, increasing the number of sites and samples while maintaining viable financial costs may only be achieved by decreasing the number of indicators studied. Since our results show similar trends between treatments and sites for microbial biomass and earthworm abundance and biomass, it is proposed that one of these two biological indicators could be removed from future assessments.

In polluted soil (CH), *Miscanthus* achieved a low yield in 2018 (Loyce et al., 2018) and therefore has limited financial benefit. Moreover, *Miscanthus* did not improve microbial biomass, earthworm community and soil structure. However, while our results do not allow for any conclusion on the phytostabilising effect of *Miscanthus* or on the decrease in the availability of pollutants, results do suggest trends in a reduction in mobility and availability of metals which is consistent with the literature (Nsanganwimana et al., 2014, Al Souki et al., 2017). On a polluted site with a sandy texture, even if *Miscanthus* has no positive effect on soil quality at the plot level, at the scale of the Chanteloup plain phytostabilization could lead to a decrease in metal mobility (Violante et al., 2010) and reduce the transfer of contaminants into groundwater and the nearby river Seine. Further studies are needed to confirm if vertical mobility of heavy metals is decreased in the *Miscanthus* rhizosphere and stratified sampling looking at different depths is proposed (Sastre et al., 2001) as well as adapting sampling to account for the heterogeneity of the site.

## 5. Conclusion

By measuring biological, physical and chemical soil quality indicators, complemented by crop yield at three locations, our work provides a first overview of the influence of *Miscanthus* on soil quality in different contexts. It highlights that soil quality under *Miscanthus* is dependent on initial site conditions and history and suggests that maintenance/improvement of soil quality is an important factor in achieving sustainable cultivation of *Miscanthus*. Further studies should assess soil quality under *Miscanthus* at other sites, in other contexts and with a longer time scale in order to further determine on which types of marginal land *Miscanthus* is environmentally as well as economically sustainable.



## **Acknowledgements**

The authors would like to thank M. Roucaute, K. Levardois, G. Hamelin, S. Busnot, L. Cardeaux, T. Soldano, V. Schaff, L. Vigneron, T. Bauduin, E. Higelin and J-R. Loup for their participation in field sampling and sample preparation, C. Walter for his help in determining soil classification and all the BFF project partners who made it possible to carry out this study and particularly C. Loyce, A. Laurent, M. Bazot, A. Butier, M. Berthou, E. Borujerdi, D. Romelot, P. Malvoisin for the installation of the experimental device, sampling collection and analysis of yield data. This work was supported by the Phyto restore company with a CIFRE grant (number 2017/0097) in partnership with INRA/Agrocampus Ovest and the University of Central Lancashire; and an ANR 11-BTBR-0006 grant for the Biomass For the Future project.





## Chapitre 2.2

Évaluation multiparamètre de la qualité du sol des cultures de *Miscanthus × giganteus*, de blé et d'une zone non cultivée sur un site agricole en Seine-et-Marne

### Résumé

Le chapitre 2.1 précédent a permis de mettre en évidence que l'effet du *Miscanthus* sur la qualité du sol des terres marginales était site dépendant, lié aux propriétés du sol (texture), à la contamination par les éléments traces métalliques et à l'historique du site. Bien que les résultats aient révélé une probable diminution de la disponibilité des ETM sur le site contaminé de Chanteloup, cette étude a aussi démontré que la culture du *Miscanthus* a eu des effets délétères sur la composante biologique du sol sur le site de Marne et Gondoire. Ces résultats vont dans le sens des travaux de certains auteurs qui mettent en évidence que l'implantation des cultures énergétiques sur des terres marginales pourrait avoir un effet négatif sur la biodiversité et qui recommandent l'implantation des cultures énergétiques au sein d'espaces agricoles, en dépit de la mise en concurrence avec les cultures alimentaires. Par ailleurs, la culture du *Miscanthus* est éligible depuis 2018 aux Surfaces d'Intérêt Ecologique (SIE) de la Politique Agricole Commune (PAC). Cette mesure résulte des nombreux travaux qui ont montré qu'en raison de l'absence d'intrants chimiques et de travail du sol, les cultures de *Miscanthus* pouvaient avoir un effet positif sur la teneur en matière organique, la biodiversité et la structure du sol par comparaison à des cultures annuelles. Cependant, la plupart de ces études comparent la culture du *Miscanthus* à une culture annuelle avec labour alors que les pratiques changent et que de nombreux agriculteurs ne labourent plus leurs champs. De plus, aucune étude n'évalue la qualité du sol à travers une approche multiparamètre des composantes chimique, biologique et physique du sol. L'objectif de l'étude qui suit (chapitre 2.2) est donc d'évaluer la qualité du sol dans un contexte agricole sous une culture de *Miscanthus* et de la comparer à celle sous une culture de blé (*Triticum aestivum*) sans labour et d'une zone non cultivée adjacente, avec l'hypothèse que les pratiques associées à la culture du *Miscanthus* (absence de travail du sol, absence de fertilisation et d'herbicides) sont favorables à la qualité du sol par comparaison aux pratiques associées à la culture de blé. Une évaluation multiparamètre des composantes chimique, biologique et physique du sol a été mise en place et les résultats ont été agrégés sous la forme d'un indice de la qualité du sol. Les résultats n'ont pas mis en évidence d'effet positif de la culture du *Miscanthus* sur la qualité du sol, excepté pour la stabilité des agrégats en mars, par comparaison à une culture de blé non labourée et à une zone non cultivée. Ces résultats sont donc en contradiction avec la littérature, où le *Miscanthus* a généralement une position intermédiaire entre une zone non cultivée de type prairie ou jachère et une culture annuelle. Cela étant, les résultats enregistrés avec le *Miscanthus* sont tout de même proches de ceux enregistrés par d'autres auteurs, ce qui signifie que l'effet du *Miscanthus* sur la qualité du sol dépend aussi de ce à quoi on le compare. Afin d'optimiser les recommandations aux agriculteurs et notamment l'attribution des subventions pour les Surfaces d'Intérêt Ecologique, d'autres études

## Chapitre 2.2

sont nécessaires afin de déterminer dans quel contexte la culture du Miscanthus pourrait être bénéfique à la qualité du sol.

# 1. Introduction

Le *Miscanthus* est une culture caractérisée par une production de biomasse importante associée au fait qu'elle ne nécessite pas de travail du sol et peu ou pas d'intrants (Lewandowski and Heinz, 2003). Cette absence de perturbations mécanique et chimique permettrait à la culture de *Miscanthus* d'avoir des effets bénéfiques sur la biodiversité, la structure du sol et de rendre des services écosystémiques (Nsanganwimana et al., 2014, McCalmont et al., 2017). En effet, la culture du *Miscanthus* permettrait l'incorporation de carbone dans le sol (Felten et al., 2013, Ferchaud et al., 2016), servirait d'habitat à la biodiversité et favoriserait la présence de petits mammifères et d'oiseaux (Bellamy et al., 2009, Semere and Slater, 2007), de bourdons, de lézards (Littlejohn et al., 2019) et augmenterait la richesse et l'abondance lombricienne (Felten and Emmerling, 2011). En outre, le *Miscanthus* améliorerait la qualité du sol via la diminution de la densité apparente et l'augmentation de la stabilité structurale (Das et al., 2016, Chantigny et al., 1997, Ruf et al., 2018b). Cependant, ces résultats positifs sont enregistrés principalement lorsque le *Miscanthus* est comparé à des cultures annuelles sous agriculture conventionnelle dont certaines pratiques ne sont pas durables. En effet, bien qu'elles aient contribué pendant de nombreuses années à l'augmentation des rendements, certaines pratiques culturales de l'agriculture conventionnelle peuvent avoir des effets délétères sur l'environnement. C'est notamment le cas de l'apport de produits phytosanitaires qui peut avoir une influence négative sur la biodiversité, avec par exemple des effets négatifs sur les pollinisateurs (Potts et al., 2010) ou sur les vers de terre (Pélosi et al., 2013). Par ailleurs, le travail du sol, et notamment le labour, favoriserait la réduction de la matière organique (Jat et al., 2019, Choudhary et al., 2018) ainsi que celle de la stabilité des agrégats (Nunes et al., 2020b) augmentant ainsi le risque d'érosion et de ruissellement (Le Bissonnais, 1996). A long terme, ces effets peuvent conduire à une baisse de la productivité des cultures (Matson et al., 1997).

Afin d'orienter et de contribuer à la durabilité de l'agriculture, la Politique Agricole Commune européenne (PAC) attribue des subventions lorsque les agriculteurs mettent en place des Surfaces d'Intérêt Ecologique (SIE) qui sont des zones non cultivées et très peu perturbées. Ces zones, intégrées dans la PAC depuis 2015, ont pour rôle de sauvegarder et d'améliorer la biodiversité au sein des exploitations (Zinngrebe et al., 2017). Les nombreux travaux mettant en évidence les effets positifs du *Miscanthus* en comparaison à des cultures annuelles ont donc conduit à ce que le *Miscanthus* devienne éligible aux SIE de la PAC depuis 2018 (Fradj et al., 2020). Cette mesure devrait donc conduire à une augmentation de l'implantation du *Miscanthus* dans les années à venir (Langhammer and Grimm, 2020). Dans ce contexte, Simoncini et al (2019) soulignent la nécessité de s'assurer de l'efficacité environnementale des actions éligibles à la PAC dont l'implantation du *Miscanthus* fait partie. Cette

évaluation est d'autant plus importante que des travaux ont mis en évidence que certaines propriétés du sol, tels que la stabilité des agrégats (Ruf et al., 2018a) et l'abondance lombricienne (Felten and Emmerling, 2011), présentaient des valeurs inférieures sous *Miscanthus* par rapport à des sols moins perturbés comme ceux des prairies ou des jachères. L'évaluation de l'effet du *Miscanthus* sur la qualité du sol dépend donc du traitement auquel il est comparé et de nombreux travaux mettent en évidence que le *Miscanthus* aurait une position intermédiaire quant à l'effet sur la qualité du sol entre une culture annuelle et une zone non perturbée (Ruf et al., 2018a, Felten and Emmerling, 2011).

Il est donc nécessaire d'améliorer nos connaissances sur l'influence du *Miscanthus* sur la qualité du sol dans un contexte agricole. Afin d'évaluer la qualité du sol de manière robuste, de nombreux travaux ont mis en évidence la nécessité d'évaluer les composantes chimique, biologique et physique du sol (Kibblewhite et al., 2008a, Bünemann et al., 2018). Cependant, alors que de nombreuses études comparent l'effet d'une culture de *Miscanthus* à des cultures annuelles ou à des prairies sur quelques propriétés du sol, à l'heure actuelle aucune étude ne compare l'effet de cette culture sur la qualité du sol via une approche multiparamètre évaluant simultanément la composante chimique, physique et biologique de manière dynamique.

L'objectif de cette étude est d'évaluer la qualité du sol dans un contexte agricole sous une culture de *Miscanthus × giganteus* et de la comparer à celle sous une culture de blé (*Triticum aestivum*) et d'une zone non cultivée adjacente, avec l'hypothèse que les pratiques associées à la culture du *Miscanthus* (absence de travail du sol, absence de fertilisation et d'herbicides) sont favorables à la qualité du sol par comparaison aux pratiques associées à la culture de blé.

## 2. Matériel et Méthode

### 2.1 Description du site

L'étude a été conduite sur trois parcelles (coordonnées GPS : 48°21'08.16''N, 3°01'23.38'' E, altitude : 77 m) de l'exploitation « Bioferme » de l'entreprise Phytoresource, sur la commune de La Brosse-Montceaux (France). Le sol est de type Cambisol (Iuss Working Group, 2015) avec une texture de type limon silto-argileux (argile : 27%, limon : 56%, sable : 17%). Le  $pH_{H_2O}$  sur ce site est de 8.1 et la teneur en  $C_{org}$  est de 10 g kg<sup>-1</sup> (Brami et al., 2020). Entre octobre 2018 et septembre 2019, la précipitation cumulée annuelle sur ce site a été de 553 mm et la température moyenne de 12.6 °C (station météorologique de la Bioferme, source : Météo France).



## 2.2 Traitements

Les trois traitements étudiés sont une culture de *Miscanthus × giganteus* (appelé traitement Miscanthus), une zone non cultivée adjacente (appelé traitement non-cultivé) et une culture de blé (*Triticum aestivum*, variété Syllon). Les traitements Miscanthus et non-cultivé ont été mis en place sur une parcelle qui, historiquement était la même. Une partie de cette parcelle a été utilisée en 2013 afin d'implanter les traitements Miscanthus du projet BFF, alors que le reste de la parcelle était toujours en culture. À partir de 2014, une zone adjacente aux traitements Miscanthus du projet BFF n'a plus été cultivée car elle devait être utilisée pour implanter un nouveau génotype de Miscanthus. L'implantation n'ayant jamais eu lieu, elle est restée sans culture jusqu'aux différentes campagnes d'échantillonnages de notre étude (voir chronologie figure 8).

### 2.2.1 Traitement « *Miscanthus × giganteus* »

Le traitement Miscanthus est une parcelle de 160 m<sup>2</sup>, implantée en février 2013, dont la culture précédente était de l'orge d'hiver (5.5 t ha<sup>-1</sup>) conduit avec un labour profond. Les rhizomes de *Miscanthus × giganteus* ont été plantés avec une densité de 1.5 rhizomes m<sup>-2</sup> après que le sol a été labouré. Une fois le Miscanthus implanté, aucun travail du sol n'a plus été effectué, à l'exception d'un désherbage mécanique réalisé les deux premières années pour lutter contre les adventices. Le miscanthus est récolté annuellement au mois de mars à l'aide d'un débroussailleur thermique à lame. Les rhizomes et les feuilles mortes sont laissés dans les champs après la récolte. Le plateau de rendement a été atteint cinq ans après l'implantation avec 14.8 t ha<sup>-1</sup> en 2018 et 14.6 t ha<sup>-1</sup> en 2019.

### 2.2.2 Traitement non-cultivé

La zone non cultivée (appelé traitement non-cultivé, figure 7) est une zone de 600 m<sup>2</sup> adjacente à la parcelle de Miscanthus (figure 9) et dont la dernière culture était du blé tendre d'hiver (8.3 t ha<sup>-1</sup>) récolté en 2014 (figure 8). Entre 2012 et 2014, alors qu'elle était en culture, cette zone, en raison de sa localisation dans la parcelle, a servi de zone de manœuvre (appelée « fourrière ») aux engins agricoles. Depuis 2014, aucune intervention n'a eu lieu sur cette zone herbacée (figure 8).

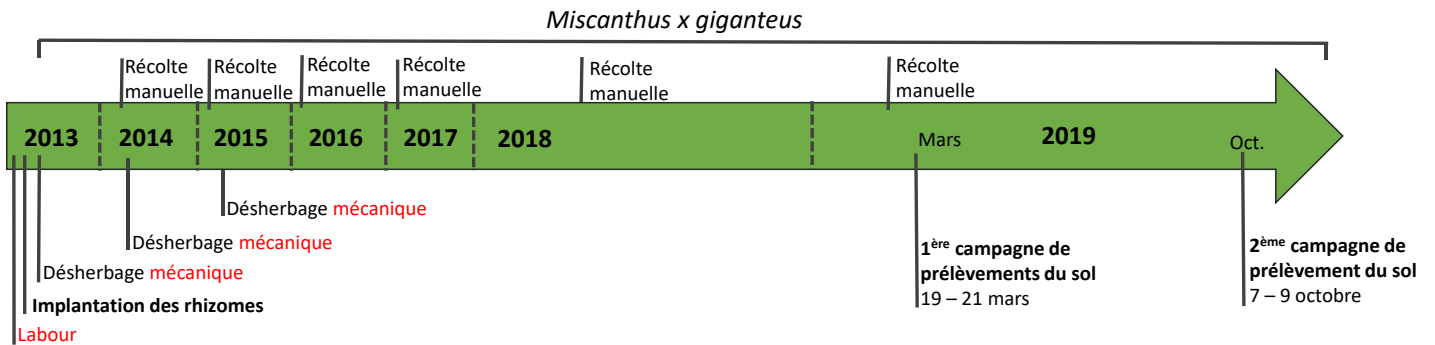


**Figure 7** : Photographie du traitement non-cultivé du site de la Bioferme

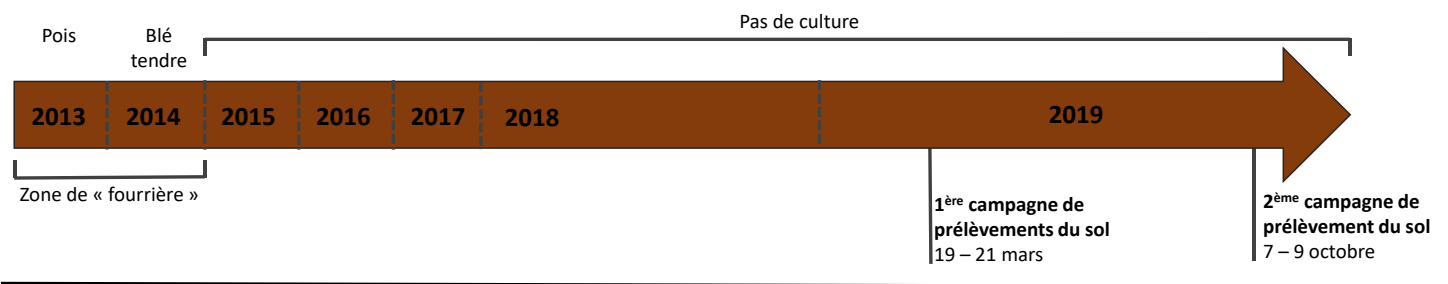
### 2.2.3 Traitement « Blé »

Le traitement en blé est une zone de 900 m<sup>2</sup> (figure 9), dans la parcelle de blé conduite en travail du sol réduit (hersage mécanique sur les 10 premiers centimètres) depuis 2013. Les cultures en rotation sur cette parcelle sont blé, orge et colza (figure 8). La culture précédente aux prélèvements de cette étude était du colza (rendement 3.7 t ha<sup>-1</sup>). Des apports d'engrais de fond ont lieu tous les 3 ans (compost, 10 t ha<sup>-1</sup> 3 ans<sup>-1</sup>) et le dernier épandage a eu lieu en août 2018. L'année de l'expérimentation, le semis du blé a eu lieu en octobre 2018. Une fertilisation minérale a été réalisée en trois apports (février, mars et mai) pour un total d'azote minéral apporté de 170 UN ha<sup>-1</sup>. Suite à la récolte réalisée en juillet 2019 (rendement = 9.6 t ha<sup>-1</sup>), les pailles ont été déchiquetées et restituées au sol.

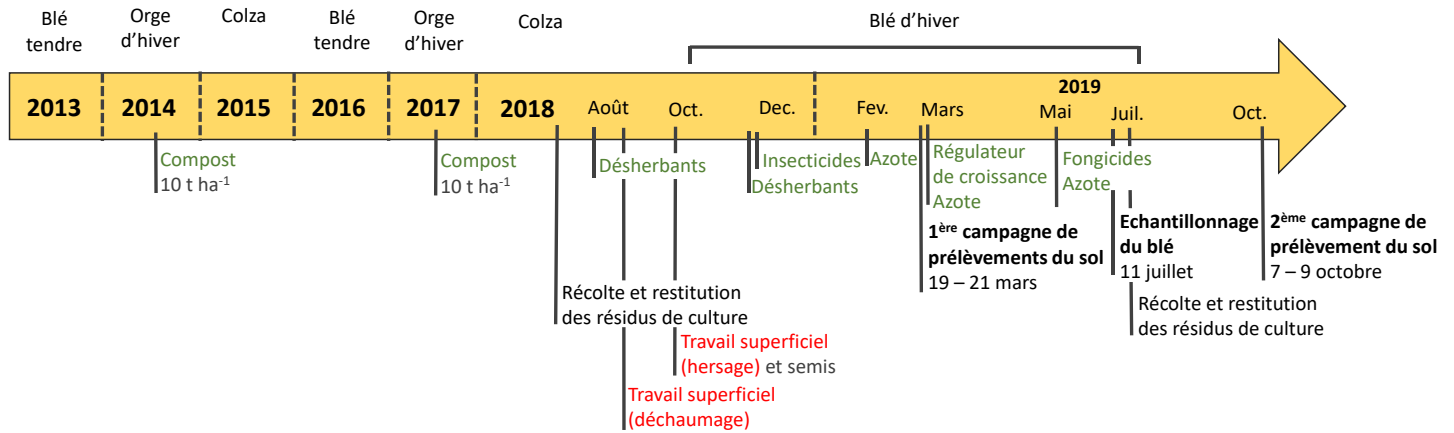
**A. Traitement Miscanthus**



**B. Traitement non-cultivé**



**C. Traitement blé**

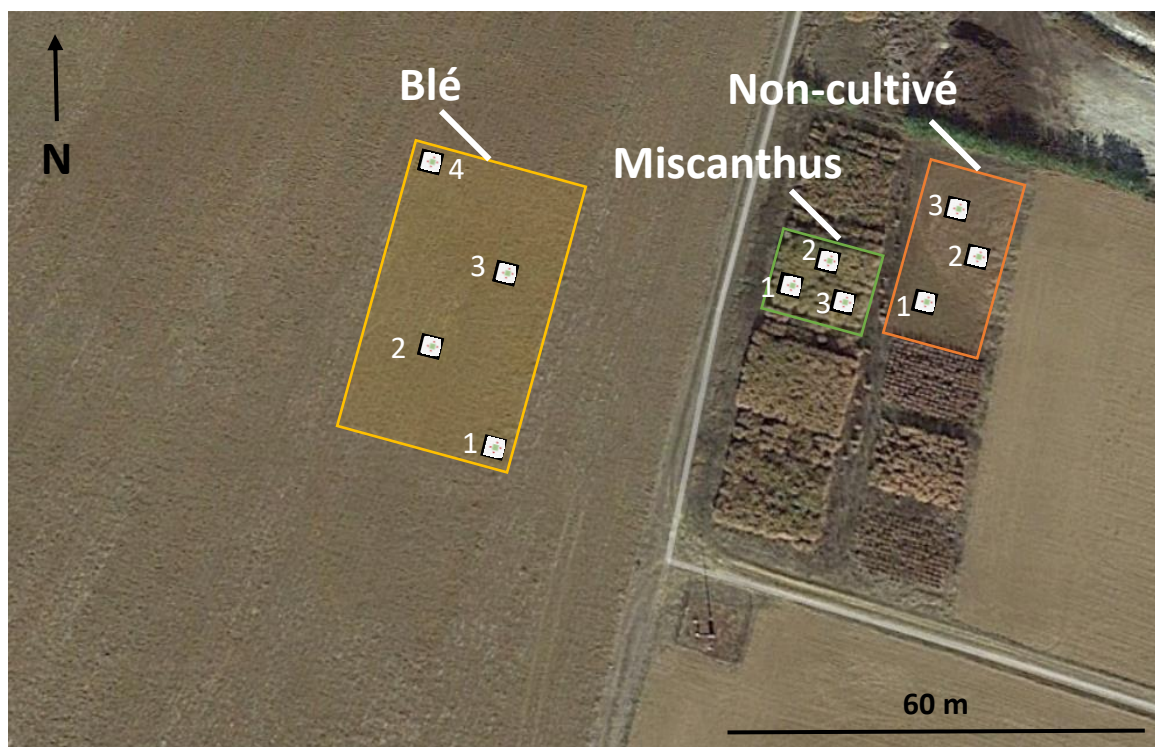


**Figure 8 :** Chronologie de l’itinéraire agricole au sein des traitements Miscanthus (A), non-cultivé (B) et blé (C) de 2013 à 2019. Les interventions mécaniques au niveau du sol sont indiquées en rouge et les apports chimiques sont indiqués en vert. Le détail des interventions n’est représenté qu’à partir du mois d’août 2018, excepté pour le traitement Miscanthus.

2.3 Dispositif expérimental et échantillonnage

Le dispositif expérimental comprenait trois placettes de 9 m<sup>2</sup> (3 m x 3 m) dans les traitements Miscanthus et non-cultivé. Le traitement blé était constitué de quatre placettes. Cette différence de nombre de placettes entre traitements s’explique par le fait que ce traitement « blé » s’inscrivait dans

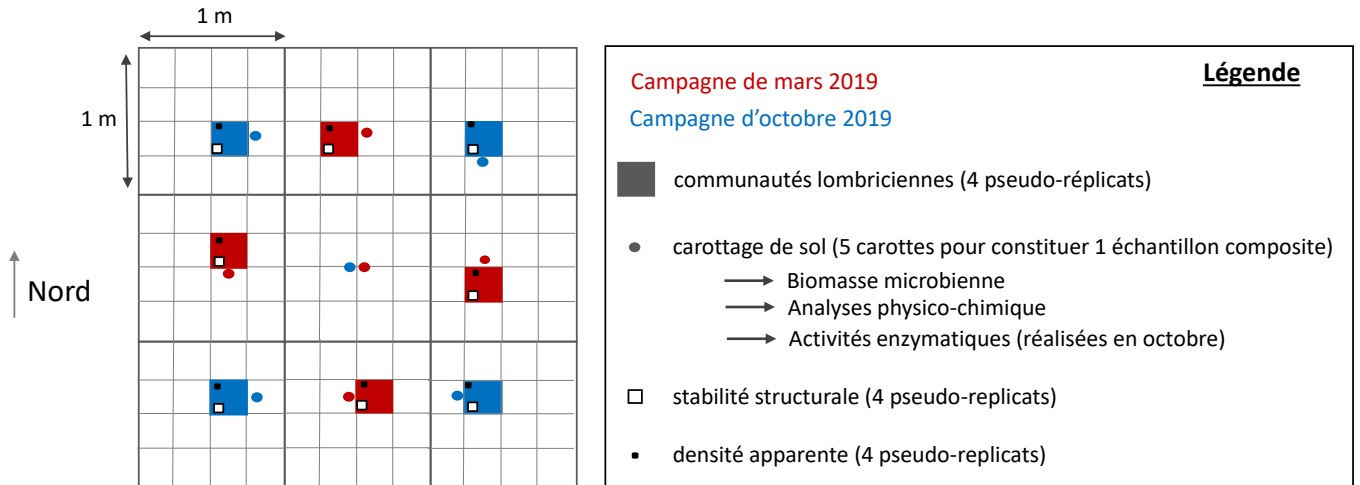
le dispositif d'étude du chapitre « 3.3 Évaluation multiparamètre de l'impact des cendres de *Miscanthus x giganteus* sur la qualité du sol d'un champ de blé ». Les placettes ont été positionnées aléatoirement dans les parcelles (figure 9).



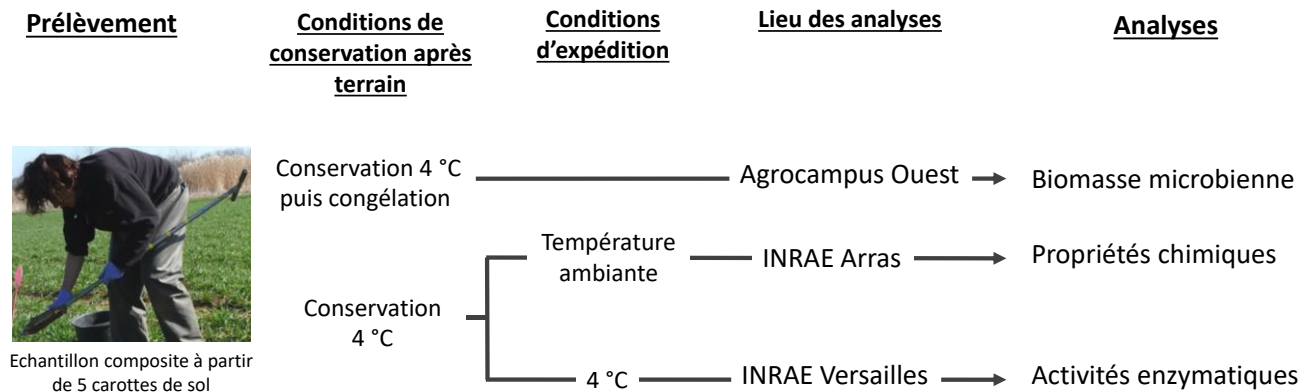
**Figure 9 :** Vue aérienne des trois traitements (Miscanthus, non-cultivé et blé) du dispositif expérimental. Les carrés blancs représentent les placettes de 9 m<sup>2</sup>, et leurs numéros associés, dans lesquelles l'échantillonnage a eu lieu.

Les placettes ont été subdivisées en 9 quadrats de 1 m<sup>2</sup> (figure 10) au sein desquels, les prélèvements suivants ont été réalisés, lors d'une campagne en mars 2019 et en octobre 2019 :

- (i) échantillonnage des communautés lombriciennes,
- (ii) échantillonnage de sol pour les mesures de la densité apparente,
- (iii) échantillonnage de sol pour l'analyse de la stabilité des agrégats,
- (iv) échantillonnage de sol pour aboutir à un échantillon composite afin de réaliser les mesures chimiques, d'activités enzymatiques et de biomasse microbienne, comme indiqué sur la figure 11.



**Figure 10 :** Schéma d'une placette de 9 m<sup>2</sup> et localisation des points d'échantillonnages réalisés en mars 2019 (rouge) et octobre 2019 (bleu).



**Figure 11 :** Schéma des analyses effectuées à partir de l'échantillon composite

## 2.4 Analyses

Toutes les analyses ont été réalisées à partir d'échantillons collectés au cours de deux campagnes de prélèvements : à la sortie de l'hiver en mars et en octobre après la récolte du blé, à l'exception des activités enzymatiques qui n'ont été réalisées qu'en octobre.

### 2.4.1 Propriétés Chimiques

Nous distinguerons les paramètres chimiques classiques, analysés pour caractériser la composante agronomique de la parcelle, des éléments traces métalliques (ETM). Les ETM ont été pris en compte dans cette étude afin d'évaluer un risque de contamination potentiel des parcelles et d'étudier dans quelle mesure le *Miscanthus* peut agir sur ces éléments traces métalliques.

Pour chaque placette, un échantillon composite de sol issu de 5 carottes de sol (20 cm de profondeur) a été conservé à 4°C. 200 g de sol frais de chaque échantillon composite ont été expédiés au Laboratoire d'Analyse des Sols d'Arras (INRAE, Arras, France) pour réaliser les mesures des paramètres agronomiques et les mesures d'éléments traces métalliques (figure 11).

#### *Composante agronomique*

- pH (NF ISO 10390, 2005),
- teneur en : carbone organique (Corg, g/kg, NF ISO 10694, 1995), azote totale (Ntot, g/kg, NF ISO 13878, 1998), phosphore assimilable (P2O5, g/kg, méthode Olsen, NF ISO 11263, 1994), potassium (K<sub>2</sub>O, g/kg) échangeable après extraction à l'acétate d'ammonium (NF X 31-108, 1992, NF ISO 22036, 2009),
- capacité d'échange cationique (CEC, cmol+/kg, méthode Metson, NF X 31-130, 1999)

#### *Les éléments traces métalliques*

Les teneurs totales en éléments ont été déterminées par :

- Spectroscopie d'Emission Atomique à Plasma à Couplage Inductif (ICP-AES) après que les échantillons ont été digérés avec de l'acide fluorhydrique (HF, NF X 31-147, 1996) pour Cr, Cu, Ni, Zn, Co, K, P, Ca, Mn, Na (mg/kg) et Fe, Al, Mg (g/kg) (NF ISO 22036, 2009).
- Spectroscopie de Masse Couplée à un Plasma Inductif (ICP-MS) pour Pb, Cd, Ti et Mo (mg/kg, NF EN ISO 17294-2, 2005).

La teneur biodisponible en Cd, Cu, Ni, Pb, Zn et Cr (mg/kg) a été évaluée par ICP-AES après digestion par l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA, C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>).

Pour chaque élément, le facteur de mobilité a été calculé, adapté de Salbu et Krekling (1998), d'après l'équation suivante :

$$\text{Facteur de mobilité} = \frac{\text{Fraction mobile extraite à l'EDTA (mg kg}^{-1}\text{)}}{\text{Fraction totale extraite avec l'acide fluorhydrique (mg kg}^{-1}\text{)}} \times 100$$

Ce pourcentage de stabilisation est utilisé comme un indicateur de la capacité de phytostabilisation des traitements.

### 2.4.2 Propriétés biologiques

#### 2.4.2.1 Activités enzymatiques

Pour rappel, seuls les échantillons provenant de la campagne d'échantillonnage d'octobre 2019 ont été utilisés pour effectuer ces mesures. 500 g de sol issus des échantillons composites de chaque placette ont été transmis à la plateforme Biochem-Env (INRAE, Versailles, France) pour l'analyse des activités enzymatiques, exprimées en mU (équivalent nmole de produit libéré par minute) par gramme de sol sec.

À la plateforme Biochem-Env, les échantillons ont été émiétés et tamisés à 5 mm avant analyse. Les activités phosphatase (PHOS),  $\beta$ -Glucosidase (GLU), uréase (URE) et arylamidase (ARN) ont été mesurées selon la norme ISO 20130 (2018). Les mesures ont été effectuées sur microplaques 96 puits (PS, Nunc, VWR) avec un lecteur Génius 2 (Safas) à partir de 4 g de sol en triplicat. L'activité Déshydrogénase (DSH) a été mesurée selon la norme ISO 23753-1 (2019). La mesure a été effectuée en tubes de 50 ml à partir de 5 g de sol en triplicat plus un tube témoin en cuves semi-micro PS sur un lecteur Helios alpha (Themoscientific).

#### 2.4.2.2 Biomasse microbienne

La biomasse microbienne du sol ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) a été mesurée par la méthode de fumigation-extraction (Vance et al., 1987) à partir de la fraction congelée des échantillons composites. 50 g de chaque échantillon composite ont été utilisés. La biomasse microbienne a été estimée en soustrayant le  $C_{\text{org}}$  extrait dans les échantillons non fumigés de la teneur en  $C_{\text{org}}$  extrait dans les échantillons fumigés. Le  $C_{\text{org}}$  extractible a été mesuré à l'aide d'un analyseur de  $C_{\text{org}}$  total (OI Analytical - 1010). Un coefficient d'extraction de 0.45 a été utilisé car l'extraction a été effectuée par UV-persulfate (Wu et al., 1990). Le ratio  $C_{\text{mic}}/C_{\text{org}}$  a été calculé d'après Anderson et al. (1989) afin d'obtenir le pourcentage de carbone microbien par rapport au  $C_{\text{org}}$  total du sol.

#### 2.4.2.3 Communauté lombricienne

Au sein de chaque placette, 4 points de prélèvement ont été définis par placette à chaque campagne (figure 10). La méthode de prélèvement des communautés lombriciennes est adaptée de la norme ISO 23611-1 (2006). Un bloc de terre (25 x 25 x 25 cm) a été extrait et trié afin de prélever les vers de terre. En parallèle de cette méthode physique, 500 ml d'une solution moutardée ( $30 \text{ g L}^{-1}$ , recommandation de l'Observatoire Participatif des Vers de Terre, EcoBioSoil, Université de Rennes 1, France) ont été appliqués dans la fosse issue du décaissage du bloc de terre, afin de pouvoir prélever les lombriciens,



notamment anéciques, qui ne l'auraient pas été dans le bloc de sol ; les vers de terre émergents ont été récupérés sur une période de 20 minutes. L'ensemble des lombriciens collectés a été conservé dans une solution formolée (4 %) avant d'être identifié au laboratoire à l'aide de la clé de détermination issue des travaux de Bouché (1972), et les masses individuelles ont été enregistrées.

Pour chaque point d'échantillonnage, le nombre de vers de terre issus du tri manuel a été additionné au nombre de vers de terre extraits à la moutarde. Les individus ont été identifiés jusqu'à l'espèce (55.5% des cas). Quand seul le genre pouvait être déterminé (44.5% des cas), une espèce a été assignée à l'individu en fonction de la proportion d'adultes présents dans chaque bloc de sol.

Les communautés lombriciennes ont ensuite été décrites par les critères d'abondance (individus m<sup>-2</sup>), de biomasse (g m<sup>-2</sup>), de structure fonctionnelle basée sur les quatre catégories écologiques (épigés, épi-anéciques, anéciques stricts et endogés (Hoeffner et al., 2019, Bouché, 1977)) et de structure spécifique (indice de Shannon, richesse, équitabilité).

### 2.4.3 Propriétés physiques

#### 2.4.3.1 Densité apparente

Les échantillons de sol permettant la mesure de densité apparente ont été prélevés dans les 10 premiers cm du sol avec un cylindre de 251 cm<sup>3</sup> (4 points par placette) et la densité apparente a été mesurée selon la norme ISO 11272 (2017).

#### 2.4.3.2 Stabilité structurale

Les échantillons de stabilité structurale ont été prélevés entre 0 et 10 cm de profondeur (4 points par placette). La stabilité structurale a été mesurée selon la méthode de Le Bissonnais (1996). Les échantillons ont été séchés à l'air libre pendant 2 semaines et délicatement émiettés de façon régulière. Après tamisage entre 3 et 5 mm, les agrégats ont été séchés à l'étuve (40°C, 24h). Les échantillons ont ensuite subi deux traitements : (1) humectation rapide par immersion dans l'eau, (2) réhumectation lente par capillarité. Le traitement (1) permet de simuler des pluies intenses et rapides tandis que le traitement (2) simule le comportement de matériaux secs face à des pluies modérées. Après avoir subi l'un de ces deux traitements, les échantillons ont été séchés à l'étuve (40°C) et passés sur une colonne de tamis à 6 étages allant de 0.05 à 2 mm et le diamètre moyen pondéral (en anglais *Mean Weight Diameter*, MWD) a été calculé comme suit :

$$MWD = \sum w_i * x_i$$



où  $i$  correspond à chaque fraction collectée dans chaque tamis,  $w_i$  est le poids sec de la fraction collectée par rapport à la quantité de sol totale utilisée et  $x_i$  est le diamètre moyen de la fraction collectée.

## 2.5 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel R (R Core Team 3.6.1, 2019) afin d'évaluer l'effet des 3 traitements (blé, Miscanthus, non-cultivé) et de la période d'échantillonnage (mars, octobre) sur les propriétés du sol au cours du temps. Un modèle linéaire mixte avec interaction a été développé. Les conditions de normalité et d'homoscédasticité des résidus ont été vérifiées ( $p$ -value > 0,05) avec les tests de Shapiro et de Barlett respectivement. Lorsqu'elles n'étaient pas respectées, les données ont été transformées en logarithme. Une ANOVA (type 2,  $p$ -value < 0,05) a été réalisée, suivie de tests post-hoc (Package 'lsmeans', Lenth and Hervé, 2015) avec correction de Tukey ( $p$ -value < 0,05). Lorsque les conditions n'étaient pas respectées, un test de Kruskal-Wallis a été réalisé.

## 2.6 Agrégation des données : indice de qualité des sols

Les propriétés du sol ont été agrégées afin de proposer un indice de qualité du sol en adaptant la méthode de Andrews et al. (2004) et en s'inspirant aussi d'Obriot et al. (2016) et de Viaud et al. (2018).

Un jeu de données minimal de 33 paramètres a été sélectionné en se basant sur l'opinion d'un réseau d'experts, comme recommandé par Andrews et al (2002a), à partir de l'ensemble du jeu de données (56 variables) puis les paramètres du sol ont été classés en cinq catégories (tableau 5) : (1) la composante biologique, (2) la composante agronomique, (3) les ETM totaux, (4) les ETM disponibles et (5) la composante physique. Des courbes réponses ont été attribuées à chaque paramètre (« more is better », « less is better » ou « optimum ») en se basant sur la littérature (Andrews et al., 2002a, Obriot et al., 2016, Viaud et al., 2018).

- La composante biologique prend en compte la biomasse microbienne et les descripteurs d'abondance et de diversité des communautés lombriciennes (biomasse, indice de Shannon, abondances des endogés, anéciques, épi-anéciques et épigés). La courbe réponse pour l'ensemble de ces propriétés est « more is better » sachant que plus un sol a une composante biologique importante, plus il est résistant et résilient aux perturbations (Obriot et al., 2016).

## Chapitre 2.2

- Concernant la composante agronomique, les propriétés du sol sélectionnées représentent la capacité du sol à fournir des nutriments pour la croissance des plantes (Obriot et al., 2016). Cette catégorie inclut le  $C_{org}$ , le  $N_{tot}$ , le pH, le phosphore Olsen ( $P_2O_5$  Olsen), le potassium échangeable ( $K_2O$  échangeable), le calcium total (Ca total) et sodium total (Na total).
- Les concentrations en ETM totaux prennent en compte l'ensemble des ETM du jeu de données. En raison du risque de contamination et/ou pollution lié à la présence de ces polluants (Villanneau et al., 2008, Mathieu et al., 2008), la courbe réponse utilisée est « less is better ».
- Les concentrations disponibles en cuivre (Cu disponible), plomb (Pb disponible) et zinc (Zn dispo) ont été sélectionnées car elles peuvent représenter un risque potentiel de contamination des plantes et de l'eau à court terme (Obriot et al., 2016).
- Pour l'évaluation de la composante physique du sol, les diamètres moyens pondérés après réhumectation lente (MWD réhumectation lente) et humectation rapide (MWD humectation rapide) ont été sélectionnés car ils renseignent sur le risque d'érosion et de ruissellement (Le Bissonais, 1996). Ils ont été précédemment utilisés par Obriot et al. (2016) et Viaud et al. (2018) tout comme la densité apparente.

Un score compris entre 0 et 1 a été attribué à chacune des variables afin qu'elles aient des valeurs comparables. En fonction de leurs courbes réponses, l'attribution des scores a été réalisée comme suit :

Soit  $x$  le résultat d'un individu pour une variable donnée,  $x_{min}$  et  $x_{max}$  les valeurs minimales et maximales respectivement de la variable et  $y$  le score.

**Pour une variable dont la courbe réponse est « more is better » :**

$$y = \frac{x - x_{min}}{x_{max} - x_{min}}$$

**Pour une variable dont la courbe réponse est « less is better » :**

$$y = \frac{x - x_{max}}{x_{min} - x_{max}}$$

**Pour une variable dont la courbe réponse est « optimum » :**

Après avoir calculé les différences entre la valeur optimale  $x_{opt}$  et les  $x_{min}$  et  $x_{max}$  de la variable, la différence la plus élevée ( $|\Delta_{max}|$ ) est sélectionnée.

## Chapitre 2.2

- Si  $|x_{min} - x_{opt}| > |x_{max} - x_{opt}|$  alors  $|x_{min} - x_{opt}| = |\Delta_{max}|$  et  $x_{max}$  est remplacé par  $w_{max} = x_{opt} + \Delta_{max}$

Lorsque  $x < x_{opt}$ ,  $x$  est normalisé avec une courbe réponse de type « more is better », de la manière suivante :

$$y = \frac{x - x_{min}}{|\Delta_{max}|}$$

Lorsque  $x > x_{opt}$ ,  $x$  est normalisé avec une courbe réponse de type « less is better », de la manière suivante :

$$y = \frac{x - w_{max}}{-|\Delta_{max}|}$$

- Si  $|x_{min} - x_{opt}| < |x_{max} - x_{opt}|$  alors  $|x_{max} - x_{opt}| = |\Delta_{max}|$  et  $x_{min}$  est remplacé par  $w_{min} = x_{opt} - \Delta_{max}$

Lorsque  $x < x_{opt}$ ,  $x$  est normalisé avec une courbe réponse de type « more is better », de la manière suivante :

$$y = \frac{x - w_{min}}{|\Delta_{max}|}$$

Lorsque  $x > x_{opt}$ ,  $x$  est normalisé avec une courbe réponse de type « less is better », de la manière suivante :

$$y = \frac{x - x_{max}}{-|\Delta_{max}|}$$

Lorsque les courbes sont de type « optimum », la valeur optimale est tirée de la littérature. Pour les autres courbes, les valeurs minimales et maximales de chaque variable, correspondent aux valeurs minimales et maximales de notre jeu de données, tous traitements confondus. Ainsi c'est une comparaison entre traitements que nous réalisons à travers cette analyse multicritère.

Pour chaque individu, les scores des différentes variables d'une même catégorie ont été additionnés (annexes 3, 4 et 5, tableaux 32, 33 et 34). Afin d'obtenir, pour chaque catégorie, un score compris entre 0 et 1 permettant la construction d'un diagramme en radar, pour une même catégorie les sommes des indicateurs sont moyennées par traitement, puis ces moyennes ont été divisées par le nombre total d'indicateurs constituant la catégorie. Autrement dit, les scores de chaque catégorie sont additionnés par individu (annexes 3, 4 et 5, tableaux 32, 33 et 34). Ils représentent alors une note sur le nombre d'indicateurs impliqués dans la catégorie : 7 pour la composante agronomique, 3 pour les métaux échangeables, 13 pour les métaux totaux, 3 pour la composante physique et 7 pour la composante

## Chapitre 2.2

biologique (tableau 5). Pour chaque catégorie, les notes des individus d'un même traitement ont été moyennées et cette note moyenne a été divisée par le nombre d'indicateurs de la catégorie. Cette démarche permet d'obtenir un score final entre 0 et 1 (résultat tableau 13) et de représenter les résultats sous forme de diagramme en radar (figure 17).

## Chapitre 2.2

**Tableau 5** : Courbes de réponse, valeurs optimales et valeurs minimales et maximales des indicateurs sélectionnés pour les composantes biologique et agronomique.

Catégorie	Indicateur	Unité	Source	Courbe réponse	Optimum	Mars		Octobre	
						Xmin	Xmax	Xmin	Xmax
<b>Composante Biologique</b>									
	Biomasse microbienne	mg C kg <sup>-1</sup>	(Antoni et al., 2013)	More is better	-	118.1	379.1	141.5	389.8
	Shannon VDT	-	Opinion d'expert	More is better	-	1.3	2.0	1.0	1.9
	Biomasse lombricienne	g m <sup>-2</sup>	Opinion d'expert	More is better	-	57	150	39	117
	Abondance endogé	ind m <sup>-2</sup>	Opinion d'expert	More is better	-	96	464	76	328
	Abondance épigé	ind m <sup>-2</sup>	Opinion d'expert	More is better	-	0	52	0	0
	Abondance épi-anécique	ind m <sup>-2</sup>	Opinion d'expert	More is better	-	0	132	0	168
	Abondance anécique strict	ind m <sup>-2</sup>	Opinion d'expert	More is better	-	16	84	4	124
<b>Composante agronomique</b>									
	N <sub>tot</sub>	g kg <sup>-1</sup>	(Viaud et al., 2018)	Optimum	2	0.85	1.41	0.84	1.29
	C <sub>org</sub>	g kg <sup>-1</sup>	(Viaud et al., 2018)	More is better	-	8.27	14.4	8.3	12.4
	pH	-	(Viaud et al., 2018)	Optimum	6.8	6.71	8.22	6.61	8.35
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Olsen	g kg <sup>-1</sup>	(Denoroy et al., 2019)	Optimum	0.07	0.081	0.167	0.064	0.166
	K <sub>2</sub> O échangeable	g kg <sup>-1</sup>	(Denoroy et al., 2019)	Optimum	0.15	0.28	0.58	0.26	0.47
	Ca total	g kg <sup>-1</sup>	(Amezket, 1999)	More is better	-	0.3	1.8	0.4	2.0
	Na total	g kg <sup>-1</sup>	Opinion d'expert	Less is better	-	0.41	0.47	0.44	0.46

**Tableau 6** : Courbe de réponse et valeur optimale des indicateurs sélectionnés pour les catégories ETM totaux, ETM disponibles et composante physique.

Catégorie	Indicateur	Unité	Source	Courbe réponse	Optimum	Mars		Octobre	
						X <sub>min</sub>	X <sub>max</sub>	X <sub>min</sub>	X <sub>max</sub>
<b>ETM totaux</b>									
	Cu	mg kg <sup>-1</sup>	(Chen et al., 2005)	Less is better	-	13.5	16.7	13.7	15.8
	Zn	mg kg <sup>-1</sup>	(Andrews et al., 2002a)	Less is better	-	62.4	79.8	63.4	79.6
	Mg	mg kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	0.28	0.38	0.29	0.40
	Cd	mg kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	0.29	0.35	0.30	0.35
	Mo	mg kg <sup>-1</sup>	(Chen et al., 2005)	Less is better	-	0.45	0.56	0.48	0.59
	Tl	mg kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	0.66	0.74	0.71	0.80
	Cr	mg kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	55.2	68.3	52.0	63.1
	Co	mg kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	9.6	10.8	9.7	11.1
	Ni	mg kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	22.8	27.9	22.8	28.6
	Al	g kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	39.6	46.1	40.7	47.4
	Fe	g kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	21.7	26.3	22.8	28.3
	Mn	mg kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	678	744	711	789
	Pb	mg kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	20.7	24.3	22.3	25.4
<b>ETM disponibles</b>									
	Cu dispo	mg kg <sup>-1</sup>	(Chen et al., 2005)	Less is better	-	3.41	3.9	3.13	3.57
	Zn dispo	mg kg <sup>-1</sup>	(Chen et al., 2005)	Less is better	-	1.81	4.99	1.34	2.84
	Pb dispo	mg kg <sup>-1</sup>	(Chen et al., 2005)	Less is better	-	5.70	7.25	4.66	6.52
<b>Composante physique</b>									
	Densité apparente	g cm <sup>-3</sup>	(USDA, 2014)	Less is better	-	1.19	1.51	1.26	1.58
	MWD réhumectation lente	mm	(Le Bissonnais, 1996)	More is better	-	0.64	1.07	0.57	1.29
	MWD humectation rapide	mm	(Le Bissonnais 1996)	More is better	-	0.37	1.35	0.52	1.40

## 3. Résultats

### 3.1 Propriété chimique

#### 3.1.1 La composante agronomique

Aucune différence entre les parcelles sous traitements blé, Miscanthus et non-cultivé n'est enregistrée pour la CEC et le ratio C/N (tableau 7). De manière similaire, les résultats ne révèlent aucune différence significative de pH entre les trois traitements, bien que le blé ait un pH de 8.1 et 8.2 en mars et en octobre respectivement, alors que les deux autres traitements ont un pH compris entre 7.2 (Miscanthus en octobre) et 6.8 (non-cultivé en mars et octobre). Comme pour le pH, aucune différence significative des teneurs en Ca entre traitements n'est observée, même si les concentrations des traitements Miscanthus et non-cultivé sont en moyenne 61% inférieures à celles du blé.

À l'inverse, au mois de mars, la teneur en  $C_{org}$ , avec des valeurs respectives de  $13.2 \pm 1.3$ ,  $12.4 \pm 0.7$  et  $9.1 \pm 0.7$  g kg<sup>-1</sup>, est supérieure de 45% dans le blé et de 36% dans le Miscanthus par rapport au traitement non-cultivé ( $p = 0.0004$  et  $p = 0.0029$  respectivement, tableau 7). En octobre, une différence entre traitements blé ( $12.1$  g kg<sup>-1</sup>) et non-cultivé ( $8.7$  g kg<sup>-1</sup>) de 39% est aussi enregistrée ( $p = 0.0014$ ). De plus, au mois d'octobre, la teneur en  $C_{org}$  dans le sol du traitement Miscanthus diminue de 17% par rapport au mois de mars ( $p = 0.0137$ ) pour atteindre  $10.6 \pm 0.5$  g/kg.

Concernant les résultats de  $N_{tot}$  (Tableau 7), au mois de mars les traitements blé ont des valeurs qui sont supérieures de 20% ( $p = 0.016$ ) et 32% ( $p < 0.001$ ) à celles des traitements Miscanthus et non-cultivé respectivement. De la même manière, au mois d'octobre, les résultats des traitements blé sont supérieurs de 17% ( $p = 0.016$ ) et 29% ( $p < 0.001$ ) aux traitements Miscanthus et non-cultivé respectivement. Par ailleurs, avec une teneur de  $N_{tot}$  de  $1.1 \pm 0.1$  g kg<sup>-1</sup> en mars et de  $1.0 \pm 0.1$  g kg<sup>-1</sup> en octobre, le traitement Miscanthus a une position intermédiaire entre le blé et le traitement non-cultivé.

Les teneurs en phosphore total (tableau 7) sont similaires entre les trois traitements et le traitement Miscanthus enregistre une augmentation de 11% ( $p = 0.002$ ) entre mars ( $0.9 \pm 0.1$  g kg<sup>-1</sup>) et octobre ( $1.0 \pm 0.1$  g kg<sup>-1</sup>). En revanche, concernant les teneurs en phosphore Olsen, les concentrations du traitement blé en mars et en octobre sont inférieures à celles du Miscanthus de 36% ( $p = 0.0258$ ) et 43% ( $p = 0.026$ ) respectivement, alors que le traitement non-cultivé a des valeurs intermédiaires avec  $0.12 \pm 0.01$  et  $0.11 \pm 0.01$  g kg<sup>-1</sup> en mars et en octobre respectivement. De plus, entre mars et octobre, les teneurs en phosphore Olsen du traitement blé diminuent de 16% ( $p = 0.003$ ) pour passer de  $0.09 \pm 0.1$  g kg<sup>-1</sup> à  $0.08 \pm 0.01$  g kg<sup>-1</sup>.

Concernant le potassium total (tableau 7), les teneurs ne sont pas significativement différentes entre les trois traitements ( $p > 0.05$ ), mais les concentrations entre mars et octobre augmentent de 3% et 4% dans le blé ( $p = 0.018$ ) et le *Miscanthus* ( $p = 0.008$ ) respectivement. Contrairement au potassium total, la teneur en  $K_2O$  échangeable dans le *Miscanthus* est supérieure au blé de 52% ( $p = 0.047$ ) et 33% ( $p = 0.047$ ) en mars et en octobre respectivement (tableau 7).

**Tableau 7 :** Indicateur de fertilité du sol (moyenne  $\pm$  écart-type) des traitements blé, *Miscanthus*  $\times$  *giganteus* et non-cultivé en mars et en octobre. Les lettres en exposant indiquent les différences significatives pour un élément (par ligne) entre les traitements et les mois.

		Traitement					
		Blé		Miscanthus		Non-cultivé	
		Mars	Octobre	Mars	Octobre	Mars	Octobre
	unité						
pH	-	8.1 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	8.2 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	7.1 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	7.2 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	6.8 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	6.8 $\pm$ 0.3 <sup>ab</sup>
C <sub>org</sub>	g/kg	13.2 $\pm$ 1.3 <sup>c</sup>	12.1 $\pm$ 0.4 <sup>bc</sup>	12.4 $\pm$ 0.7 <sup>c</sup>	10.6 $\pm$ 0.5 <sup>ab</sup>	9.1 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	8.7 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>
N <sub>tot</sub>	g/kg	1.3 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>	1.2 $\pm$ 0.0 <sup>bc</sup>	1.1 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	1.0 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	0.9 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	0.9 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
C/N	-	10.0 $\pm$ 0.3 <sup>ab</sup>	9.7 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	11.7 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	10.2 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	10.0 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	9.9 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>
CEC	cmol+/kg	13.1 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	13.1 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	11.8 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	12.0 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	10.3 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>	10.4 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>
P total	g/kg	0.9 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	0.9 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	0.9 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	1.0 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	0.8 $\pm$ 0.0 <sup>ab</sup>	0.8 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Olsen	g/kg	0.09 $\pm$ 0.01 <sup>cd</sup>	0.08 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.14 $\pm$ 0.02 <sup>ef</sup>	0.14 $\pm$ 0.03 <sup>cd</sup>	0.12 $\pm$ 0.01 <sup>bd</sup>	0.11 $\pm$ 0.01 <sup>ace</sup>
K total	g/kg	17.0 $\pm$ 0.3 <sup>ac</sup>	17.5 $\pm$ 0.1 <sup>bd</sup>	16.7 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	17.5 $\pm$ 0.2 <sup>cd</sup>	16.8 $\pm$ 0.6 <sup>abcd</sup>	16.7 $\pm$ 0.4 <sup>abcd</sup>
K <sub>2</sub> O échangeable	g/kg	0.33 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.30 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.50 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	0.39 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup>	0.33 $\pm$ 0.06 <sup>abc</sup>	0.31 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>
Ca	g/kg	10.5 $\pm$ 5.8 <sup>ab</sup>	11.3 $\pm$ 6.5 <sup>a</sup>	4.3 $\pm$ 0.4 <sup>ab</sup>	4.9 $\pm$ 0.4 <sup>ab</sup>	3.8 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>	4.1 $\pm$ 0.4 <sup>ab</sup>

### 3.1.2 Eléments traces métalliques

#### **Eléments traces métalliques totaux**

Les résultats des ETM sont présentés dans le tableau 8 avec les valeurs de référence suggérées par Mathieu et al. (2008) et Villanneau et al. (2008) avec lesquels ils seront comparés dans la partie discussion. Aucune différence des teneurs totales en Zn et Mn n'a été enregistrée entre traitements, quelle que soit la date de campagne, et aucune variabilité temporelle (mars vs octobre) n'a été observée intra-traitement pour ces éléments. Le Cd, le Cr et le Pb ne présentent pas non plus de teneurs significativement différentes entre traitements, quelle que soit la date de prélèvement.

En revanche, des différences significatives ont été enregistrées entre les traitements pour certains éléments. Deux groupes de réponses apparaissent :

1. Pour le Ni, Mo, Co, Al et Fe, les teneurs sont supérieures dans le blé par rapport aux traitements *Miscanthus* et non-cultivé :



## Chapitre 2.2

- Le Ni est supérieur de 10% ( $p = 0.0284$ ) et 9% ( $p = 0.0317$ ) dans le blé par rapport au Miscanthus et de 15% ( $p = 0.0026$ ) et 18% ( $p = 0.0317$ ) dans le blé par rapport au traitement non-cultivé en mars et en octobre respectivement.
  - De la même manière, le Mo est supérieur dans le blé de 13% ( $p = 0.0336$ ) et 9% ( $p = 0.0336$ ) par rapport au Miscanthus et de 17% ( $p = 0.0058$ ) et 14% ( $p = 0.0058$ ) par rapport au traitement non-cultivé en mars et en octobre respectivement.
  - La concentration en Co du sol du traitement blé est supérieure de 7% ( $p = 0.0245$ ) et 5% ( $p = 0.0245$ ) par rapport au traitement Miscanthus et de 9% ( $p = 0.0018$ ) et de 10% ( $p = 0.0018$ ) par rapport au traitement non-cultivé en mars et en octobre respectivement.
  - La concentration en Al est supérieure dans le blé de 8% ( $p = 0.0469$ ) par rapport au Miscanthus en mars et de 11% ( $p = 0.0057$ ) par rapport au traitement non-cultivé en octobre.
2. Pour le Cu, Mg, Tl et Fe, les teneurs sont supérieures dans le traitement blé par rapport au traitement non-cultivé, mais pas par rapport au traitement Miscanthus :
- Le Cu est supérieur de 14% ( $p = 0.0054$ ) et 10% ( $p = 0.0054$ ) dans le blé par rapport au traitement non-cultivé en mars et en octobre respectivement.
  - Le Mg est supérieur dans le blé de 22% ( $p = 0.0044$ ) et 25% ( $p = 0.0018$ ) par rapport au traitement non-cultivé en mars et en octobre.
  - Le Tl a une concentration supérieure dans le blé de 8% ( $p = 0.0408$ ) et 9% ( $p = 0.0275$ ) par rapport au traitement non-cultivé en mars et en octobre.
  - Le Fe est supérieur dans le blé de 14% ( $p = 0.0112$ ) et 16% ( $p = 0.0037$ ) par rapport au traitement non-cultivé en mars et en octobre.

Par ailleurs, une variabilité temporelle est observée pour certains éléments, et deux groupes de réponses sont encore observés :

1. les concentrations en Cd, Pb, Co et Fe augmentent au sein d'un même traitement entre mars et octobre :
  - La concentration en Cd dans le traitement Miscanthus augmente de 7% ( $p = 0.0165$ ) entre mars et octobre.
  - La concentration en Pb augmente de 6% ( $p = 0.0022$ ), 12% ( $p = 0.0001$ ) et 9% ( $p = 0.0007$ ) entre mars et octobre pour les traitements blé, Miscanthus et non-cultivé respectivement.
  - La concentration en Co augmente de 2% ( $p = 0.0184$ ), 4% ( $p = 0.0184$ ) et 1% ( $p = 0.0184$ ) dans les traitements blé, Miscanthus et non-cultivé entre mars et octobre respectivement.
  - Le Fe augmente de 6% ( $p = 0.0006$ ), 8% ( $p = 0.0003$ ) et 4% ( $p = 0.0249$ ) dans les traitements blé, Miscanthus et non-cultivé respectivement.

2. À l'inverse, les teneurs en Cr diminuent de 14% ( $p = 0.0218$ ) dans le blé et de 16% ( $p = 0.0225$ ) dans le traitement non-cultivé entre mars et octobre.

***Éléments traces métalliques disponibles et facteurs de mobilité***

Aucune différence significative entre traitements n'est enregistrée pour les teneurs en Cd, Cr, Cu, Ni, Pb et Zn disponibles (extraction à l'EDTA) (tableau 9). De la même manière, aucune différence significative entre traitements n'est enregistrée pour les facteurs de mobilité associés (tableau 9).

Chapitre 2.2

**Tableau 8** : Concentration en éléments traces métalliques totaux (moyenne  $\pm$  écart-type) des traitements blé, *Miscanthus*  $\times$  *giganteus* et non-cultivé en mars et en octobre. Les lettres en exposant indiquent les différences significatives pour un élément (par ligne) entre les traitements et les mois.

Élément trace métallique	unité	Traitement						Valeur seuil	
		Blé		Miscanthus		Non-cultivé		(Mathieu et al., 2008)	(Villanneau et al., 2008)
		Mars	Octobre	Mars	Octobre	Mars	Octobre	Île-de-France	France entière
Cd	mg/kg	0.33 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.33 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.32 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.34 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.31 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.32 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.51	0.94
Cr	mg/kg	64.6 $\pm$ 2.5 <sup>b</sup>	55.6 $\pm$ 4.3 <sup>a</sup>	61.3 $\pm$ 5.7 <sup>ab</sup>	59.9 $\pm$ 2.9 <sup>ab</sup>	65.6 $\pm$ 2.4 <sup>b</sup>	55.3 $\pm$ 2.9 <sup>a</sup>	65.2	158.4
Cu	mg/kg	15.8 $\pm$ 0.7 <sup>b</sup>	15.5 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	14.7 $\pm$ 0.6 <sup>ab</sup>	14.9 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	13.8 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	14.0 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	28.0	59.5
Ni	mg/kg	27.6 $\pm$ 0.2 <sup>bc</sup>	28.0 $\pm$ 0.7 <sup>c</sup>	25.2 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	25.6 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	24.0 $\pm$ 1.3 <sup>a</sup>	23.7 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>	31.2	84.7
Pb	mg/kg	23.7 $\pm$ 0.6 <sup>abc</sup>	25.0 $\pm$ 0.4 <sup>d</sup>	21.9 $\pm$ 0.4 <sup>ab</sup>	24.6 $\pm$ 0.5 <sup>cd</sup>	21.7 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>	23.6 $\pm$ 1.2 <sup>bcd</sup>	53.7	86.9
Zn	mg/kg	76.8 $\pm$ 2.6 <sup>a</sup>	77.1 $\pm$ 2.0 <sup>a</sup>	69.9 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	71.3 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	68.2 $\pm$ 5.4 <sup>a</sup>	65.6 $\pm$ 3.7 <sup>a</sup>	88.0	227.5
Mo	mg/kg	0.5 $\pm$ 0.0 <sup>e</sup>	0.6 $\pm$ 0.0 <sup>f</sup>	0.5 $\pm$ 0.0 <sup>ac</sup>	0.5 $\pm$ 0.0 <sup>bde</sup>	0.5 $\pm$ 0.0 <sup>ab</sup>	0.5 $\pm$ 0.0 <sup>cd</sup>	-	2.3
Tl	mg/kg	0.7 $\pm$ 0.0 <sup>bc</sup>	0.8 $\pm$ 0.0 <sup>d</sup>	0.7 $\pm$ 0.0 <sup>ab</sup>	0.8 $\pm$ 0.0 <sup>cd</sup>	0.7 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	0.7 $\pm$ 0.0 <sup>bc</sup>	-	1.9
Co	mg/kg	10.7 $\pm$ 0.1 <sup>d</sup>	11.0 $\pm$ 0.1 <sup>e</sup>	10.0 $\pm$ 1.0 <sup>ab</sup>	10.5 $\pm$ 0.1 <sup>cd</sup>	9.8 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	10.0 $\pm$ 0.3 <sup>bc</sup>	-	37.2
Mn	mg/kg	726.5 $\pm$ 26.6 <sup>ab</sup>	773.3 $\pm$ 16.1 <sup>b</sup>	685.7 $\pm$ 7.5 <sup>a</sup>	747.3 $\pm$ 3.2 <sup>ab</sup>	695.0 $\pm$ 19.0 <sup>a</sup>	726.0 $\pm$ 21.0 <sup>ab</sup>	-	-
Al	g/kg	43.5 $\pm$ 0.7 <sup>bc</sup>	46.7 $\pm$ 0.6 <sup>c</sup>	42.0 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	44.4 $\pm$ 0.4 <sup>bcd</sup>	41.2 $\pm$ 2.0 <sup>ab</sup>	42.0 $\pm$ 1.9 <sup>ab</sup>	-	-
Fe	g/kg	26.1 $\pm$ 0.3 <sup>bc</sup>	27.8 $\pm$ 0.4 <sup>d</sup>	24.1 $\pm$ 0.3 <sup>ab</sup>	26.1 $\pm$ 0.3 <sup>cd</sup>	23.0 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>	23.9 $\pm$ 1.6 <sup>bc</sup>	-	-
Mg	g/kg	3.6 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>	3.8 $\pm$ 0.2 <sup>d</sup>	3.1 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	3.4 $\pm$ 0.0 <sup>bcd</sup>	3.0 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	3.1 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	-	-

## Chapitre 2.2

**Tableau 9 :** Concentration en éléments traces métalliques et facteur de mobilité des traitements blé, Miscanthus et non-cultivé en mars et en octobre.

Élément trace métallique Disponibles		unité		Traitement					
				Blé		Miscanthus		Non-cultivé	
				Mars	Octobre	Mars	Octobre	Mars	Octobre
Cd	mg/kg	0.20 ± 0.01 <sup>bc</sup>	0.18 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.01 <sup>abc</sup>	0.19 ± 0.02 <sup>abc</sup>	0.21 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.18 ± 0.01 <sup>ab</sup>		
Cr	mg/kg	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>		
Cu	mg/kg	3.9 ± 0.0 <sup>d</sup>	3.4 ± 0.2 <sup>abc</sup>	3.7 ± 0.2 <sup>cd</sup>	3.4 ± 0.2 <sup>ab</sup>	3.5 ± 0.1 <sup>bcd</sup>	3.3 ± 0.1 <sup>a</sup>		
Ni	mg/kg	3.2 ± 0.8 <sup>efgh</sup>	2.4 ± 0.8 <sup>abcd</sup>	3.6 ± 0.0 <sup>cdgh</sup>	2.9 ± 0.1 <sup>abef</sup>	3.6 ± 0.1 <sup>bdfh</sup>	3.0 ± 0.1 <sup>aceg</sup>		
Pb	mg/kg	6.6 ± 0.2 <sup>ab</sup>	5.5 ± 0.2 <sup>a</sup>	6.7 ± 0.7 <sup>ab</sup>	5.8 ± 0.6 <sup>ab</sup>	6.1 ± 0.6 <sup>b</sup>	5.2 ± 0.7 <sup>ab</sup>		
Zn	mg/kg	3.9 ± 1.0 <sup>a</sup>	2.5 ± 0.3 <sup>ab</sup>	2.9 ± 0.9 <sup>ab</sup>	1.8 ± 0.2 <sup>ab</sup>	2.4 ± 0.5 <sup>ab</sup>	1.5 ± 0.1 <sup>b</sup>		
<b>Facteur de mobilité</b>									
Cd	(%)	62.1 ± 2.1 <sup>b</sup>	53.7 ± 2.4 <sup>a</sup>	63.2 ± 1.1 <sup>b</sup>	55.4 ± 3.6 <sup>a</sup>	67.4 ± 0.7 <sup>b</sup>	55.8 ± 2.0 <sup>a</sup>		
Cr	(%)	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>		
Cu	(%)	24.4 ± 1.0 <sup>a</sup>	21.9 ± 1.5 <sup>a</sup>	25.0 ± 1.1 <sup>a</sup>	22.8 ± 1.1 <sup>a</sup>	25.5 ± 0.6 <sup>a</sup>	23.3 ± 0.5 <sup>a</sup>		
Ni	(%)	11.5 ± 2.9 <sup>bcde</sup>	8.5 ± 3.0 <sup>a</sup>	14.4 ± 0.2 <sup>de</sup>	11.5 ± 0.2 <sup>abc</sup>	15.1 ± 0.4 <sup>ce</sup>	12.6 ± 0.3 <sup>abd</sup>		
Pb	(%)	27.7 ± 1.1 <sup>a</sup>	22.1 ± 1.0 <sup>a</sup>	30.6 ± 2.1 <sup>a</sup>	23.6 ± 2.2 <sup>a</sup>	28.0 ± 1.2 <sup>a</sup>	22.1 ± 1.6 <sup>a</sup>		
Zn	(%)	5.1 ± 1.1 <sup>a</sup>	3.3 ± 0.3 <sup>ab</sup>	4.1 ± 2.1 <sup>ab</sup>	2.5 ± 0.3 <sup>ab</sup>	3.5 ± 0.5 <sup>ab</sup>	2.2 ± 0.1 <sup>b</sup>		

## 3.2 Propriété biologique

### 3.2.1 Biomasse microbienne

La biomasse microbienne est supérieure de 80% ( $p = 0.001$ ) et de 150% ( $p < 0.001$ ) dans le traitement blé par rapport aux traitements *Miscanthus* et non-cultivé en mars (tableau 10). Cet effet du traitement est aussi observable en octobre où la biomasse microbienne du blé est supérieure de 80% ( $p < 0.001$ ) et 125% ( $p < 0.001$ ) par rapport aux traitements *Miscanthus* et non-cultivé respectivement.

En outre, des corrélations positives sont enregistrées entre les résultats de biomasse microbienne des deux dates d'échantillonnage et les résultats de  $C_{org}$  ( $r = 0.79$ ,  $p < 0.001$ ),  $N_{tot}$  ( $r = 0.94$ ,  $p < 0.001$ ) et du pH ( $r = 0.98$ ,  $p < 0.001$ ).

Comme pour la biomasse microbienne, en mars le ratio  $C_{mic}/C_{org}$  présente des résultats dans le traitement blé qui sont supérieurs de 70% ( $p < 0.001$ ) et 71% ( $p < 0.001$ ) aux traitements *Miscanthus* et non-cultivé. Cette différence est aussi observable en octobre avec des résultats supérieurs dans le blé de 56% ( $p < 0.001$ ) et de 64% ( $p < 0.001$ ) par rapport aux traitements *Miscanthus* et non-cultivé. Par ailleurs, une augmentation du ratio  $C_{mic}/C_{org}$  de 14% ( $p = 0.024$ ) et 24% ( $p = 0.044$ ) est enregistrée entre mars et octobre pour les traitements blé et non-cultivé respectivement.

Les résultats du ratio  $C_{mic}/C_{org}$  des deux dates d'échantillonnage sont corrélés positivement aux résultats de biomasse microbienne ( $r = 0.95$ ,  $p < 0.001$ ), de  $C_{org}$  ( $r = 0.57$ ,  $p = 0.008$ ), de  $N_{tot}$  ( $r = 0.81$ ,  $p < 0.001$ ) et du pH ( $r = 0.94$ ,  $p < 0.001$ ).

**Tableau 10** : Moyennes ( $\pm$  écart-types) de la biomasse microbienne et du ratio  $C_{mic}/C_{org}$  dans le sol des traitements blé, *Miscanthus*  $\times$  *giganteus* et non-cultivé. Les lettres en exposant indiquent les différences significatives par ligne entre les traitements et les mois.

		Traitement					
		Blé		Miscanthus		Non-cultivé	
		Mars	Octobre	Mars	Octobre	Mars	Octobre
Biomasse microbienne	(mg C kg <sup>-1</sup> sol)	330 $\pm$ 45 <sup>b</sup>	346 $\pm$ 33 <sup>b</sup>	182 $\pm$ 23 <sup>a</sup>	194 $\pm$ 25 <sup>a</sup>	131 $\pm$ 13 <sup>a</sup>	153 $\pm$ 17 <sup>a</sup>
$C_{mic}/C_{org}$	(%)	2.5 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>	2.9 $\pm$ 0.2 <sup>d</sup>	1.5 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	1.8 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	1.5 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	1.8 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>

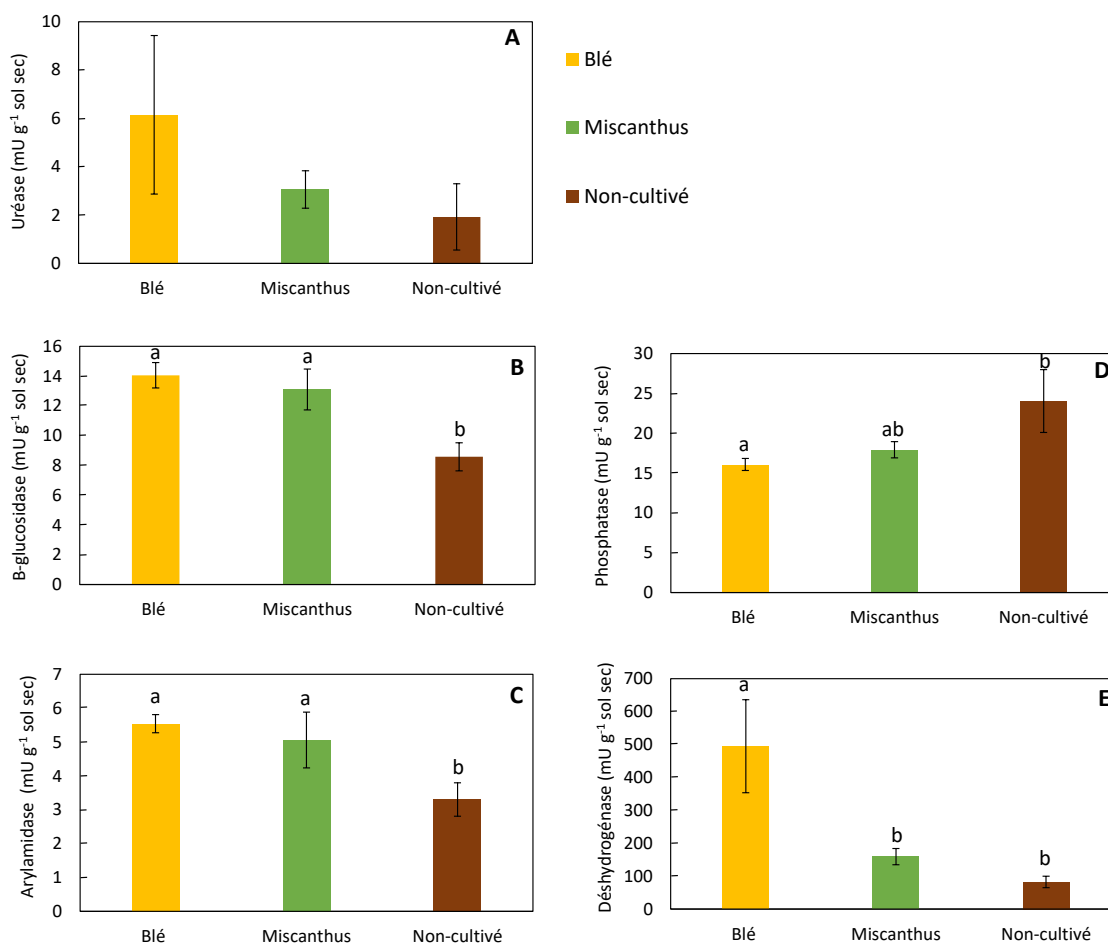
### 3.2.2 Potentiel d'activités enzymatiques

Pour rappel, les activités enzymatiques ont été mesurées en octobre seulement. L'analyse de l'effet des traitements met en avant trois groupes de réponses :

## Chapitre 2.2

- 1) certaines activités sont significativement plus élevées dans le sol du traitement blé comparé au non-cultivé, mais sans se différencier du traitement Miscanthus :  $\beta$ -glucosidase (figure 12.B), arylamidase (figure 12.C)
  - En effet, avec  $14.1 \pm 0.9$  mU g<sup>-1</sup> sol sec dans le blé et  $13.1 \pm 1.4$  mU g<sup>-1</sup> sol sec dans le Miscanthus, l'activité  $\beta$ -glucosidase est supérieure de 64% ( $p < 0.001$ ) dans le blé et de 53% ( $p = 0.00268$ ) dans le Miscanthus par rapport au traitement non-cultivé ( $8.6 \pm 0.9$  mU g<sup>-1</sup> sol sec).
  - Dans le même sens, l'activité arylamidase, qui est de  $5.5 \pm 0.3$  mU g<sup>-1</sup> sol sec dans le traitement blé et de  $5.1 \pm 0.8$  mU g<sup>-1</sup> sol sec dans le traitement Miscanthus, est supérieure de 68% ( $p = 0.00245$ ) dans le blé et de 53% ( $p = 0.01298$ ) dans le Miscanthus par rapport au traitement non-cultivé ( $3.3 \pm 0.5$  mU g<sup>-1</sup> sol sec).
  
- 2) Certaines activités enzymatiques sont plus élevées dans le blé comparé au Miscanthus et au non-cultivé (ces deux derniers ne se différenciant pas entre eux) : uréase (figure 12.A), et déshydrogénase (figure 12.E) :
  - Bien que les différences ne soient pas significatives, cette tendance est aussi observée pour l'uréase dont l'activité dans le traitement blé ( $6.1 \pm 3.3$  mU g<sup>-1</sup> sol sec) est 100% et 220% supérieure à celle des traitements Miscanthus ( $3.1 \pm 0.8$  mU g<sup>-1</sup> sol sec) et non-cultivé ( $1.9 \pm 1.4$  mU g<sup>-1</sup> sol sec) respectivement.
  - Les résultats de l'activité déshydrogénase (figure 12.E) révèlent que le traitement blé ( $494.5 \pm 141.3$  mU g<sup>-1</sup> sol sec) est supérieur de 210% ( $p = 0.00246$ ) et de 500% ( $p < 0.001$ ) aux traitements Miscanthus ( $159.3 \pm 24.5$  mU g<sup>-1</sup> sol sec) et non-cultivé ( $82.6 \pm 17.3$  mU g<sup>-1</sup> sol sec) respectivement.
  
- 3) À l'inverse, l'activité des phosphatases (figure 12.D) est significativement supérieure de 50% ( $p = 0.0148$ ) dans le traitement non-cultivé ( $24.0 \pm 4.0$  mU g<sup>-1</sup> sol sec) par rapport au traitement blé ( $16.1 \pm 0.8$  mU g<sup>-1</sup> sol sec) et elle tend à être supérieure de 34% au traitement Miscanthus ( $17.9 \pm 1.0$  mU g<sup>-1</sup> sol sec).

## Chapitre 2.2



**Figure 12** : Moyennes ( $\pm$  écarts-types) des activités enzymatiques (uréase - A,  $\beta$ -glucosidase - B, arylamidase - C, phosphatase - D, déshydrogénase - E) dans le sol des traitements blé (jaune), *Miscanthus x giganteus* (vert) et non-cultivé (marron) en octobre. Les lettres indiquent les différences significatives entre traitements.

### 3.2.3 Communauté lombricienne

#### Abondance lombricienne, structure fonctionnelle et spécifique

**L'abondance lombricienne, les structures fonctionnelles et spécifiques** ont été influencées par les différents traitements en mars et en octobre.

#### 1. Au mois de mars :

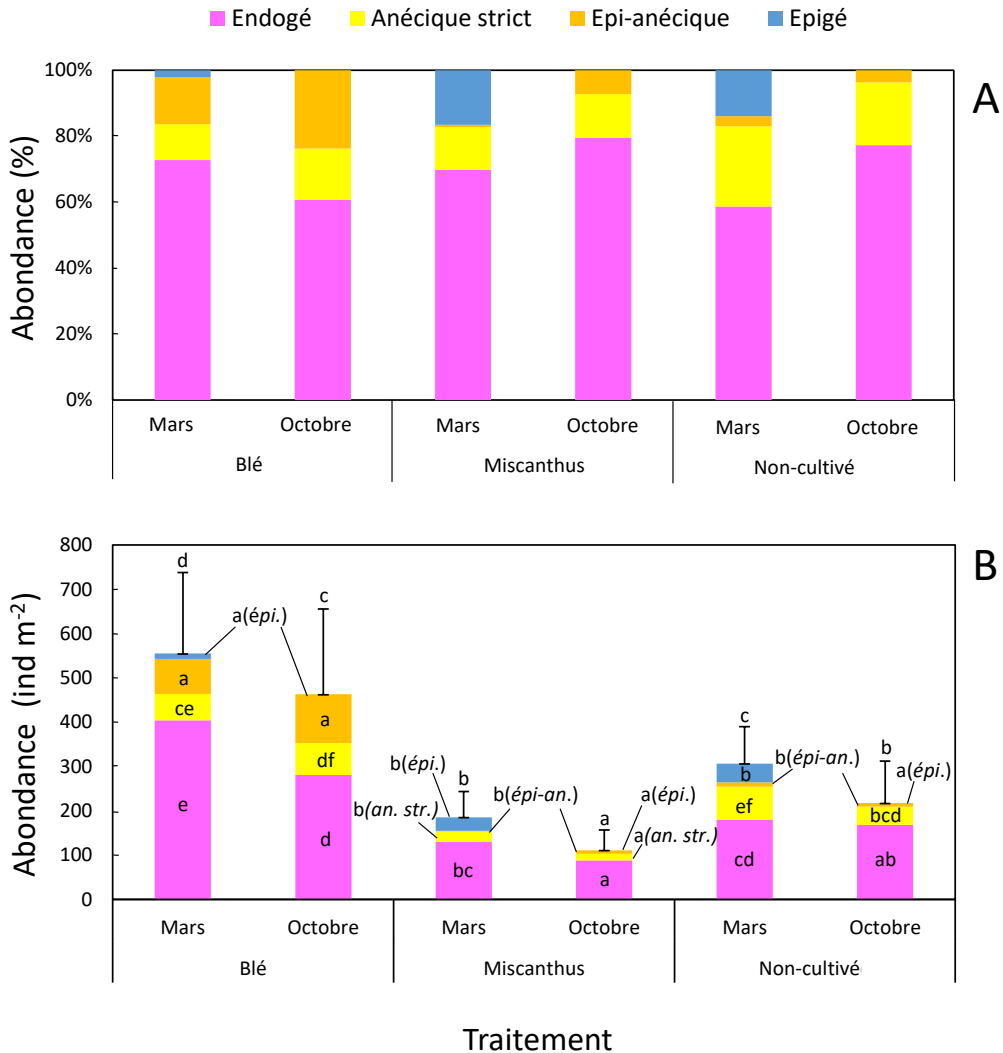
Au mois de mars, l'abondance totale enregistrée dans le blé (tableau 11, figure 13.B) est supérieure de 200% ( $p < 0.001$ ) et de 80% ( $p = 0.004$ ) à celle des traitements *Miscanthus* et non-cultivé respectivement. Le traitement non-cultivé a une position intermédiaire avec une abondance totale qui est 66% supérieure à celle du traitement *Miscanthus* ( $185 \pm 58 \text{ ind m}^{-2}$ ).

Concernant la structure fonctionnelle (les catégories écologiques) et spécifique :

- les différences entre traitements affectent particulièrement les épi-anéciques, représentés uniquement par l'espèce *Lumbricus terrestris* et dont l'abondance est de  $79 \pm 90$  ind  $m^{-2}$  dans le blé, où elle représente 14% de la population, et de seulement  $1 \pm 5$  et  $9 \pm 8$  ind  $m^{-2}$  dans les traitements Miscanthus et non-cultivé respectivement où elle ne représente que 0.5% et 3% de la population (figure 13 et tableau 11 et 12). Les abondances des épi-anéciques des traitements Miscanthus et non-cultivé sont donc inférieures de 99% ( $p < 0.001$ ) et de 89% ( $p=0.001$ ) par rapport au traitement blé.
- la catégorie endogée domine la communauté dans les trois traitements avec une proportion qui est comprise entre 73% (blé) et 59% (non-cultivé). De plus, l'abondance de cette catégorie dans le traitement blé ( $404 \pm 154$  ind  $m^{-2}$ ) est supérieure de 213% ( $p = 0.001$ ) et de 124% ( $p=0.016$ ) par rapport aux traitements Miscanthus ( $129 \pm 59$  ind  $m^{-2}$ ) et non-cultivé ( $180 \pm 59$  ind  $m^{-2}$ ) respectivement. Cette catégorie est constituée de trois espèces : *Allolobophora icterica*, *Allolobophora rosea rosea* et *Allolobophora chlorotica chlorotica albanica*. La structure spécifique diffère en fonction des traitements : la communauté est dominée par *A. chlorotica chlorotica albanica* dans le traitement blé ( $184 \pm 15$  ind  $m^{-2}$ ) alors que c'est *A. icterica* qui domine les traitements Miscanthus ( $88 \pm 61$  ind  $m^{-2}$ ) et non-cultivé ( $79 \pm 40$  ind  $m^{-2}$ ).
- la catégorie des anéciques stricts est plus abondante dans le traitement non-cultivé ( $75 \pm 20$  ind  $m^{-2}$ ) avec une abondance relative qui représente 24% de la communauté dans ce traitement. Elle est intermédiaire dans le traitement blé, avec  $60 \pm 30$  ind  $m^{-2}$  représentant 11% de la communauté. Son abondance est la plus faible dans le traitement Miscanthus avec  $24 \pm 17$  ind  $m^{-2}$ , ce qui représente 13% de la communauté. Les résultats du traitement Miscanthus sont donc inférieurs de 60% ( $p = 0.002$ ) et de 68% ( $p < 0.0001$ ) par rapport aux traitements blé et non-cultivé respectivement. Cette catégorie est constituée des espèces *Aporrectodea longa longa* et *Aporrectodea giardi*. Elle est dominée par l'espèce *Aporrectodea longa longa* qui est supérieure dans le traitement non-cultivé ( $67 \pm 28$  ind  $m^{-2}$ ) de 64% et de 10% par rapport aux traitements Miscanthus ( $24 \pm 17$  ind  $m^{-2}$ ) et blé ( $60 \pm 30$  ind  $m^{-2}$ ) respectivement. L'espèce *A. giardi* n'est présente que dans le traitement non-cultivé avec  $8 \pm 28$  ind  $m^{-2}$ .
- la catégorie épigée du mois de mars, représentée uniquement par l'espèce *Lumbricus castaneus*, suit des tendances inverses aux trois autres catégories écologiques. En effet, l'abondance relative de cette espèce est maximale dans le Miscanthus, où elle représente 17% de la communauté, alors que dans les traitements non-cultivé et blé, elle ne représente plus que 14% et 2% de la communauté respectivement. Par ailleurs, l'abondance de cette espèce



est supérieure de 255% ( $p = 0.001$ ) et de 155% ( $p = 0.045$ ) dans les traitements *Miscanthus* ( $31 \pm 29 \text{ ind m}^{-2}$ ) et non-cultivé ( $43 \pm 34 \text{ ind m}^{-2}$ ) par rapport au traitement blé ( $12 \pm 28 \text{ ind m}^{-2}$ ).



**Figure 13 :** A : Abondance relative des quatre catégories écologiques (épigé - bleu, épi-anécique – orange, anécique strict – jaune et endogé - rose) dans les traitements blé, *Miscanthus*  $\times$  *giganteus* et non-cultivé en mars et en octobre. B : Abondance (moyenne et écart-type) totale et des catégories écologiques dans les traitements blé, *Miscanthus*  $\times$  *giganteus* et non-cultivé en mars et en octobre. Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et les mois.

## 2. Au mois d'octobre :

Au mois d'octobre, les mêmes différences entre traitements sont observées avec une abondance totale dans le blé ( $463 \pm 193 \text{ ind m}^{-2}$ ) qui est supérieure de 318% ( $p < 0.001$ ) et de 110% ( $p = 0.004$ ) à celle des traitements *Miscanthus* ( $111 \pm 46 \text{ ind m}^{-2}$ ) et non-cultivé ( $220 \pm 95 \text{ ind m}^{-2}$ ). Comme en mars,

le traitement Miscanthus est aussi celui dont l'abondance totale est la plus faible et son abondance totale est 100% ( $p = 0.010$ ) inférieure à celle du traitement non-cultivé.

En ce qui concerne la structure fonctionnelle et spécifique :

- les différences entre traitements sont similaires à celles du mois de mars pour les épi-anéciques qui sont toujours représentés uniquement par l'espèce *L. terrestris*. Cette catégorie représente 24% ( $110 \pm 88$  ind  $m^{-2}$ ), 4% ( $8 \pm 13$  ind  $m^{-2}$ ) et 3% ( $8 \pm 16$  ind  $m^{-2}$ ) de la communauté dans les traitements blé, Miscanthus et non-cultivé respectivement. L'abondance de cette catégorie est donc 93% inférieure dans les traitements Miscanthus ( $p = 0.0002$ ) et non-cultivé ( $p < 0.0001$ ) par rapport au traitement blé.
- les endogés sont aussi plus abondants dans le blé et cette catégorie domine toujours l'ensemble de la communauté tous traitements confondus. Les résultats sont 69% ( $p = 0.001$ ) et 40% ( $p = 0.015$ ) inférieurs dans les traitements Miscanthus ( $88 \pm 45$  ind  $m^{-2}$ ) et non-cultivé ( $168 \pm 79$  ind  $m^{-2}$ ) respectivement par rapport au traitement blé où ils constituent 61% de la communauté avec  $281 \pm 107$  ind  $m^{-2}$ . Comme au mois de mars, c'est l'espèce *A. icterica* qui domine cette catégorie. Cependant, elle ne domine l'ensemble de la communauté que dans les traitements Miscanthus et non-cultivé. Par ailleurs, elle représente 24%, 60% et 37% de l'abondance totale dans les traitements blé, Miscanthus et non-cultivé respectivement.
- les anéciques stricts ont une abondance qui représente 16% ( $72 \pm 54$  ind  $m^{-2}$ ), 14% ( $15 \pm 14$  ind  $m^{-2}$ ) et 19% ( $41 \pm 28$  ind  $m^{-2}$ ) de la communauté dans les traitements blé, Miscanthus et non-cultivé respectivement. L'abondance de cette catégorie est supérieure dans le blé de 79% ( $p < 0.0001$ ) par rapport au traitement Miscanthus. De plus, bien qu'ils ne soient pas significatifs, les résultats de cette catégorie dans le blé sont 43% ( $p = 0.25$ ) supérieurs à ceux du traitement non-cultivé. L'abondance des anéciques dans le traitement Miscanthus est aussi significativement inférieure au traitement non-cultivé de 63% ( $p = 0.0003$ ). Comme au mois de mars, c'est l'espèce *A. longa longa* qui domine la communauté et qui représente 15%, 8% et 14% de l'abondance totale dans les traitements blé, Miscanthus et non-cultivé respectivement.
- Concernant la catégorie épigée, contrairement au mois de mars aucun individu n'a été récolté dans les trois traitements au mois d'octobre.

De plus, un effet de saisonnalité est enregistré sur l'ensemble de la communauté, avec une abondance totale qui diminue de 17% ( $p = 0.002$ ) dans le blé, de 40% ( $p = 0.002$ ) dans le Miscanthus et de 29% ( $p = 0.002$ ) dans le traitement non-cultivé entre mars et octobre (figure 13 et tableau 11). Cet effet

## Chapitre 2.2

saisonnier s'explique notamment par la disparition de l'espèce épi-anécique *L. terrestris* en octobre ainsi que par la diminution de l'abondance de deux espèces endogées : *A. icterica* et *A. rosea rosea*.

Pour résumer concernant l'abondance des catégories écologiques aux deux périodes d'échantillonnage :

- ➔ C'est la culture du blé qui est la plus favorable à l'abondance des épi-anéciques et des endogés alors que le traitement non-cultivé a des résultats intermédiaires et que le *Miscanthus* présente les résultats les plus faibles.
- ➔ Les anéciques stricts sont plus abondants dans le traitement non-cultivé en mars alors qu'en octobre c'est dans le traitement blé que leur abondance est la plus élevée.
- ➔ La seule espèce épigée enregistrée l'a été au mois de mars.

Concernant l'indice d'équitabilité, aucune différence entre traitements n'est enregistrée aux deux périodes d'échantillonnage (tableau 12) et il est compris entre  $0.80 \pm 0.15$  (*Miscanthus* en octobre) et  $0.87 \pm 0.08$  (non-cultivé en mars).

Le nombre total d'espèces au sein de chaque traitement et aux deux périodes d'échantillonnage est de 6, excepté dans le traitement non-cultivé du mois de mars où leur nombre total est de 7. Concernant la richesse spécifique (Tableau 12), elle est comprise entre  $2.83 \pm 0.72$  (*Miscanthus* en octobre) et  $4.92 \pm 0.79$  (non-cultivé en mars) et aucune différence significative n'est enregistrée entre traitements.

L'indice de Shannon (Tableau 12) en mars est compris entre  $1.57 \pm 0.49$  (*Miscanthus*) et  $1.99 \pm 0.30$  (non-cultivé) et aucune différence significative n'est enregistrée entre traitements. En revanche, en octobre, il est plus élevé dans le traitement blé ( $1.87 \pm 0.25$ ) de 37% ( $p = 0.0004$ ) et de 28% ( $p = 0.012$ ) par rapport aux traitements *Miscanthus* et non-cultivé respectivement.

### **Corrélations avec d'autres paramètres du sol**

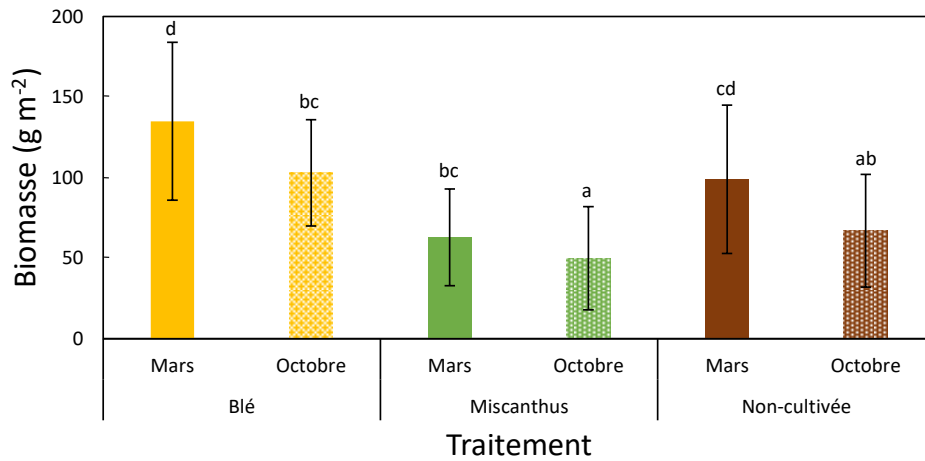
Des corrélations positives sont enregistrées entre les abondances totales mesurées aux deux dates d'échantillonnage et le  $N_{tot}$  ( $r = 0.74$ ,  $p < 0.001$ ), le  $C_{org}$  ( $r = 0.55$ ,  $p = 0.011$ ), le pH ( $r = 0.75$ ,  $p < 0.001$ ), la biomasse microbienne ( $r = 0.76$ ,  $p < 0.001$ ) et le ratio  $C_{mic}/C_{org}$  ( $r = 0.73$ ,  $p < 0.001$ ).

### Biomasse lombricienne

Comme pour les résultats d'abondance lombricienne, la biomasse est influencée par les trois types d'occupation du sol (figure 14 et tableau 11) et les réponses sont similaires à celles de l'abondance.

Ainsi, au mois de mars, le traitement blé est celui dont la biomasse est la plus élevée ( $135 \pm 49 \text{ g m}^{-2}$ ), avec des résultats 114% ( $p = 0.006$ ) et 36% ( $p = 0.083$ ) supérieurs aux traitements *Miscanthus* et non-cultivé respectivement. Le traitement non-cultivé présente des valeurs intermédiaires aux deux autres traitements et, même si cette différence n'est pas significative, sa biomasse est 57% supérieure à celle du traitement *Miscanthus* dont la biomasse totale est la plus faible avec  $63 \pm 30 \text{ g m}^{-2}$ .

Comme pour le mois de mars, les résultats du mois d'octobre sont les plus élevés dans le traitement blé et les plus faibles dans le traitement *Miscanthus* (figure 14 et tableau 11). En effet, avec  $103 \pm 33 \text{ g m}^{-2}$ , le traitement blé a une biomasse 106% supérieure au traitement *Miscanthus* ( $50 \pm 32 \text{ g m}^{-2}$ ). Par ailleurs, avec une biomasse de  $67 \pm 35 \text{ g m}^{-2}$  en octobre, le traitement non-cultivé a des valeurs intermédiaires et non significativement différentes de celles des deux autres traitements (Figure 14 et tableau 11).



**Figure 14** : Biomasse lombricienne totale (moyenne  $\pm$  écart-type) dans les traitements blé (jaune), *Miscanthus*  $\times$  *giganteus* (vert) et non-cultivé (marron) en mars et en octobre. Les lettres indiquent les différences significatives entre traitements et mois.

## Chapitre 2.2

**Tableau 11** : Abondance des catégories écologiques et biomasse totale, indice d'équitabilité, indice de Shannon et richesse spécifique des communautés lombriciennes dans les traitements blé, *Miscanthus* × *giganteus* et non-cultivé en mars et en octobre.

		Traitement					
		Blé		Miscanthus		Non-cultivé	
		Mars	Octobre	Mars	Octobre	Mars	Octobre
<b>Abondance</b>							
<b>Épigé</b>	(ind m <sup>-2</sup> )	12 ± 28 <sup>a</sup>	0 ± 0 <sup>a</sup>	31 ± 29 <sup>b</sup>	0 ± 0 <sup>a</sup>	43 ± 34 <sup>b</sup>	0 ± 0 <sup>a</sup>
<b>Anécique-strict</b>	(ind m <sup>-2</sup> )	60 ± 30 <sup>ce</sup>	72 ± 54 <sup>df</sup>	24 ± 17 <sup>b</sup>	15 ± 14 <sup>a</sup>	75 ± 20 <sup>ef</sup>	41 ± 28 <sup>bcd</sup>
<b>Epi-anécique</b>	(ind m <sup>-2</sup> )	79 ± 90 <sup>a</sup>	110 ± 88 <sup>a</sup>	1 ± 5 <sup>b</sup>	8 ± 13 <sup>b</sup>	9 ± 8 <sup>b</sup>	8 ± 16 <sup>b</sup>
<b>Endogé</b>	(ind m <sup>-2</sup> )	404 ± 155 <sup>e</sup>	281 ± 107 <sup>d</sup>	129 ± 59 <sup>bc</sup>	88 ± 45 <sup>a</sup>	180 ± 59 <sup>cd</sup>	168 ± 79 <sup>ab</sup>
<b>Total</b>	(ind m <sup>-2</sup> )	555 ± 183 <sup>d</sup>	463 ± 193 <sup>c</sup>	185 ± 58 <sup>b</sup>	111 ± 46 <sup>a</sup>	308 ± 83 <sup>c</sup>	220 ± 95 <sup>b</sup>
<b>Biomasse totale</b>	(g m <sup>-2</sup> )	135 ± 49 <sup>d</sup>	103 ± 33 <sup>bc</sup>	63 ± 30 <sup>bc</sup>	50 ± 32 <sup>a</sup>	99 ± 46 <sup>cd</sup>	67 ± 35 <sup>ab</sup>

**Tableau 12** : Abondance moyenne des espèces (± écart-type) dans les traitements blé, *Miscanthus* × *giganteus* et non-cultivé en mars et en octobre.

Taxon		Traitement					
		Blé		Miscanthus		Non-cultivé	
		Mars	Octobre	Mars	Octobre	Mars	Octobre
<b>Épigé</b>							
<i>Lumbricus castaneus</i>	(ind m <sup>-2</sup> )	12 ± 28	0 ± 0	31 ± 29	0 ± 0	43 ± 34	0 ± 0
<b>Anécique strict</b>							
<i>Aporrectodea giardi</i>	(ind m <sup>-2</sup> )	0 ± 0	2 ± 5	0 ± 0	5 ± 10	8 ± 28	11 ± 28
<i>Aporrectodea longa longa</i>	(ind m <sup>-2</sup> )	60 ± 30	70 ± 56	24 ± 17	9 ± 11	67 ± 28	31 ± 22
<b>Épi-anécique</b>							
<i>Lumbricus terrestris</i>	(ind m <sup>-2</sup> )	79 ± 90	110 ± 88	1 ± 5	8 ± 13	9 ± 8	8 ± 16
<b>Endogé</b>							
<i>Allolobophora icterica</i>	(ind m <sup>-2</sup> )	152 ± 123	109 ± 70	88 ± 61	67 ± 47	79 ± 40	81 ± 51
<i>Allolobophora rosea rosea</i>	(ind m <sup>-2</sup> )	68 ± 60	19 ± 15	13 ± 15	3 ± 6	55 ± 46	8 ± 19
<i>Allolobophora chlorotica chlorotica albanica</i>	(ind m <sup>-2</sup> )	184 ± 115	153 ± 104	28 ± 31	19 ± 20	47 ± 74	79 ± 70
<b>Indice d'équitabilité</b>		0.83 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.84 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.84 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.80 ± 0.15 <sup>a</sup>	0.87 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.84 ± 0.11 <sup>a</sup>
<b>Indice de Shannon</b>		1.83 ± 0.31 <sup>b</sup>	1.87 ± 0.25 <sup>b</sup>	1.57 ± 0.49 <sup>ab</sup>	1.17 ± 0.39 <sup>a</sup>	1.99 ± 0.30 <sup>b</sup>	1.35 ± 0.40 <sup>a</sup>
<b>Richesse spécifique</b>	(espèce m <sup>-2</sup> )	4.69 ± 0.87 <sup>a</sup>	4.69 ± 0.48 <sup>a</sup>	3.75 ± 1.06 <sup>a</sup>	2.83 ± 0.72 <sup>a</sup>	4.92 ± 0.79 <sup>a</sup>	3.17 ± 0.94 <sup>a</sup>

### 3.3 Propriété physique

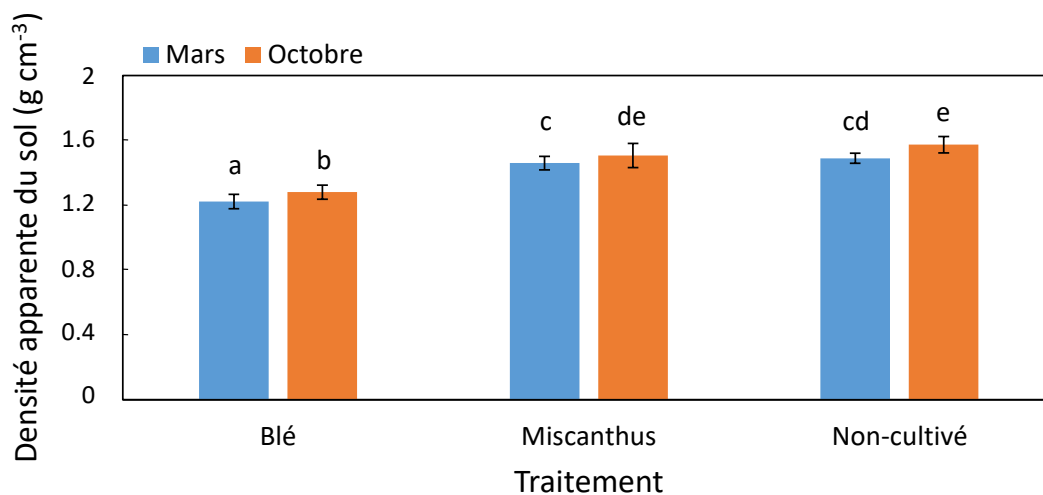
#### 3.3.1 Densité apparente

La densité apparente (Figure 15) est influencée différemment selon les traitements aux deux périodes d'échantillonnage.

En mars, les résultats sont inférieurs dans le blé de 16% ( $p = 0.0001$ ) et 18% ( $p < 0.0001$ ) par rapport aux traitements *Miscanthus* ( $1.46 \pm 0.04 \text{ g cm}^{-3}$ ) et non-cultivé ( $1.49 \pm 0.03 \text{ g cm}^{-3}$ ) respectivement. Cet effet est aussi visible au mois d'octobre avec des résultats dans le blé qui sont inférieurs de 15% ( $p = 0.0001$ ) et 19% ( $p < 0.0001$ ) à ceux des traitements *Miscanthus* ( $1.51 \pm 0.07 \text{ g cm}^{-3}$ ) et non-cultivé ( $1.57 \pm 0.05 \text{ g cm}^{-3}$ ).

Par ailleurs, il y a une augmentation, bien que légère, de la densité apparente entre le mois de mars et le mois d'octobre dans l'ensemble des traitements avec des résultats qui augmentent de 5% ( $p < 0.0001$ ), 3% ( $p < 0.0001$ ) et 6% ( $p < 0.0001$ ) entre mars et octobre dans les traitements blé, *Miscanthus* et non-cultivé respectivement.

En outre, les résultats de densité apparente d'octobre et de mars sont corrélés négativement à ceux du  $C_{org}$  ( $r = -0.77$ ,  $p = 6.9e-05$ ), de la biomasse microbienne ( $r = -0.89$ ,  $p = 1.1e-07$ ), de l'abondance lombricienne ( $r = -0.83$ ,  $p = 7.1e-06$ ) et de la biomasse lombricienne ( $r = -0.68$ ,  $p = 0.001$ ).



**Figure 15 :** Densité apparente moyenne (avec écart-type) du sol des traitements blé, *Miscanthus × giganteus* et non-cultivé en mars (bleu) et en octobre (orange). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et entre les mois.

### 3.3.2 Stabilité structurale

#### ***Test humectation rapide***

Au mois de mars, des différences significatives entre traitements sont enregistrées après humectation rapide (Figure 16.A). Le traitement blé ( $0.40 \pm 0.20$  mm) est inférieur de 64% ( $p < 0.0001$ ) au traitement Miscanthus qui présente les résultats les plus élevés avec  $1.11 \pm 0.24$  mm alors que le traitement non-cultivé a des résultats intermédiaires avec un MWD de  $0.77 \pm 0.36$  mm. Au mois d'octobre, c'est le traitement non-cultivé qui présente les résultats les plus élevés ( $1.30 \pm 0.40$  mm) avec des valeurs 51% ( $p < 0.0001$ ) supérieures à celles du traitement blé ( $0.63 \pm 0.16$  mm). Concernant le traitement Miscanthus du mois d'octobre, il présente des résultats intermédiaires ( $0.76 \pm 0.26$  mm) avec un diamètre pondéré moyen qui est 16% supérieur à celui du blé.

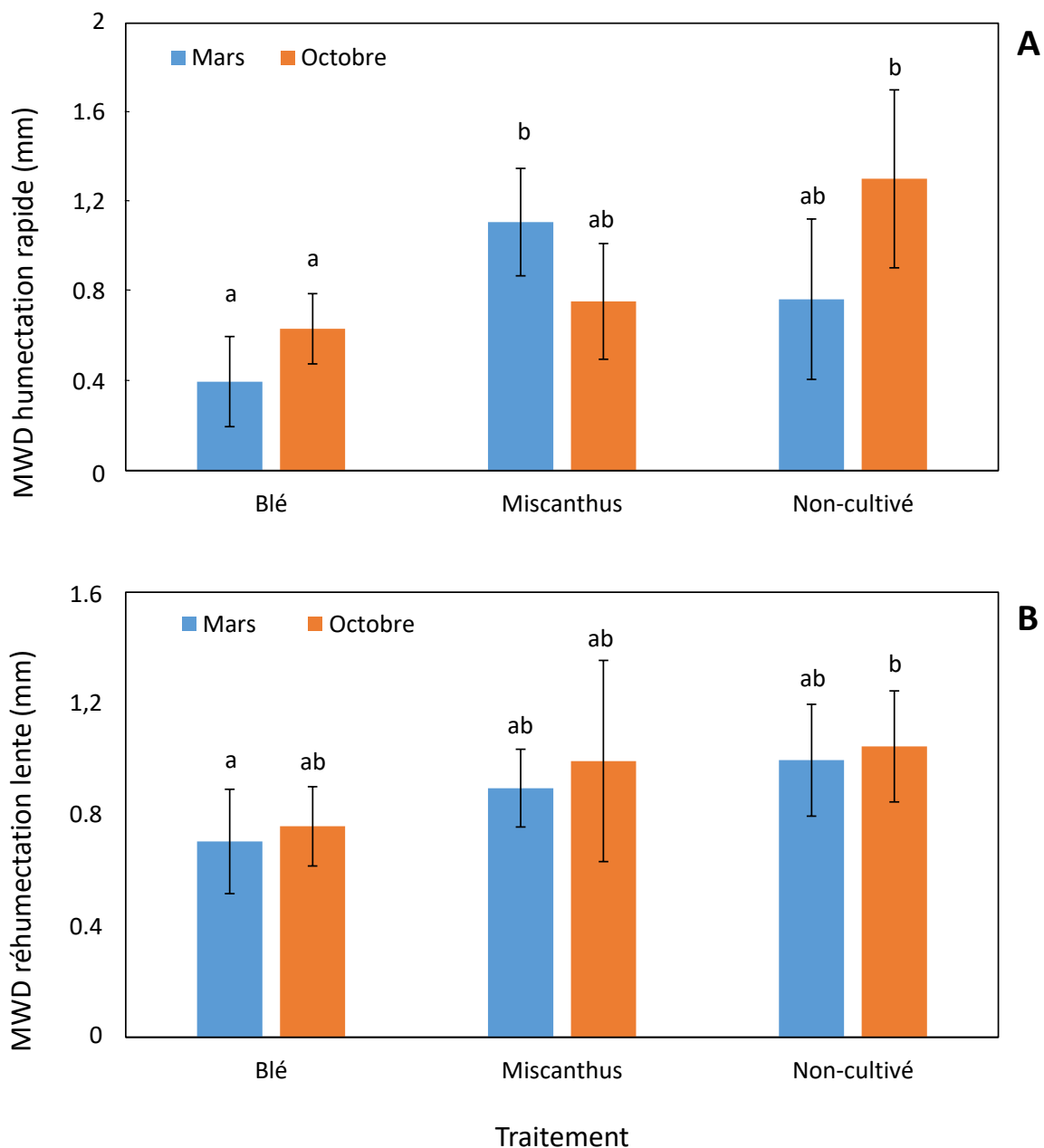
#### ***Test réhumectation lente***

Aucune différence significative entre traitements n'est enregistrée suite au test de réhumectation lente des échantillons du mois de mars et d'octobre (figure 16.B). Cependant, en mars les résultats tendent à être inférieurs dans le blé ( $0.70 \pm 0.19$  mm) de 30% par rapport au traitement non-cultivé ( $1.00 \pm 0.20$  mm) et le Miscanthus présente des résultats intermédiaires avec  $0.90 \pm 0.14$  mm. La même tendance est observée en octobre avec des résultats dans le blé ( $0.76 \pm 0.14$  mm) inférieurs de 27% à ceux du traitement non-cultivé ( $1.05 \pm 0.20$  mm). Le traitement Miscanthus du mois d'octobre enregistre des résultats intermédiaires avec  $0.99 \pm 0.36$  mm.

#### ***Corrélation avec d'autres paramètres du sol***

Il y avait une corrélation positive entre les résultats d'humectation rapide et ceux de réhumectation lente de mars et d'octobre ( $r = 0.62$ ,  $p = 0.0034$ ).

Ces mêmes résultats sont corrélés positivement à ceux de la densité apparente avec  $r = 0.71$  ( $p = 0.0004$ ) et  $r = 0.65$  ( $p = 0.0018$ ) pour l'humectation rapide et la réhumaction lente respectivement. De plus, les résultats d'humectation rapide et de réhumectation lente sont corrélés négativement aux valeurs de  $N_{tot}$  ( $r = -0.67$ ,  $p = 0.0014$  pour les deux traitements) et de  $C_{org}$  ( $r = -0.53$ ,  $p = 0.017$  et  $r = -0.62$ ,  $p = 0.0032$  respectivement) ainsi que de biomasse microbienne ( $r = -0.64$ ,  $p = 0.0021$  et  $r = -0.64$ ,  $p = 0.0025$  respectivement), d'abondance lombricienne ( $r = -0.68$ ,  $p = 0.001$  et  $r = -0.54$ ,  $p = 0.013$  respectivement) et de biomasse lombricienne ( $r = -0.68$ ,  $p = 0.001$  et  $r = -0.50$ ,  $p = 0.025$  respectivement).



**Figure 16** : Stabilité structurale (avec écart-type) des agrégats de sol après humectation rapide (A) et réhumectation lente (B) en mars (bleu) et en octobre (orange) dans les traitements blé, *Miscanthus × giganteus* et non-cultivé. Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et entre les mois.



### 3.4 Synthèse et agrégation des données

Le détail des scores obtenus pour les différents paramètres est présenté dans les annexes 3 (tableau 32), 4 (tableau 33) et 5 (tableau 34). L'approche agrégée permet de mettre en évidence les effets des traitements, en différenciant la campagne de mars et celle d'octobre.

- **Au mois de mars**

Au mois de mars (figure 17A, tableau 13), l'indice le plus élevé de la composante agronomique est celui du traitement blé (0.66), alors que le traitement Miscanthus (0.49) occupe une position intermédiaire, le traitement non-cultivé ayant l'indice le plus faible (0.41). Les catégories des métaux échangeables et des métaux totaux présentent les indices les plus élevés dans le traitement non-cultivé avec 0.70 et 0.67 respectivement ; le traitement blé est celui ayant les moins bons résultats pour ces deux catégories (0.29 et 0.17 respectivement), alors que le traitement Miscanthus est en position intermédiaire (0.44 et 0.50).

Concernant la composante physique du sol, le meilleur indice est celui du traitement Miscanthus (0.47), relativement proche de celui du traitement non-cultivé, alors que l'indice du traitement blé est le plus faible (0.36).

La composante biologique obtient un indice très élevé en blé (0.67), le Miscanthus présentant l'indice le plus faible (0.33), et le traitement non-cultivé présentant une position intermédiaire (0.45).

**Indice total** : La moyenne de l'ensemble des indices permet de distinguer les traitements : le traitement non-cultivé présente l'indice total le plus élevé (0.55), le Miscanthus est intermédiaire (0.45), alors que le traitement blé présente l'indice total le plus faible (0.41).

- **Au mois d'octobre**

Au mois d'octobre (figure 17B, tableau 13), les mêmes tendances sont observées excepté pour la composante physique du sol. En effet, la composante agronomique du sol a les meilleurs résultats dans le traitement blé (0.68), alors que le résultat le plus faible est celui du traitement non-cultivé (0.41). Les métaux échangeables et totaux sont les plus élevés dans le traitement non-cultivé (0.77 et 0.79 respectivement) alors que, comme en mars, c'est le traitement blé qui a les résultats les plus faibles avec 0.39 et 0.21 respectivement, le Miscanthus ayant une position intermédiaire (0.51 et 0.43 respectivement).

## Chapitre 2.2

Concernant la composante physique du sol, alors qu'elle était maximale dans le Miscanthus en mars, elle devient minimale en octobre dans ce traitement (0.36). Le blé obtient une position intermédiaire pour cette composante (0.44) et le traitement non-cultivé est celui ayant les meilleurs résultats (0.53).

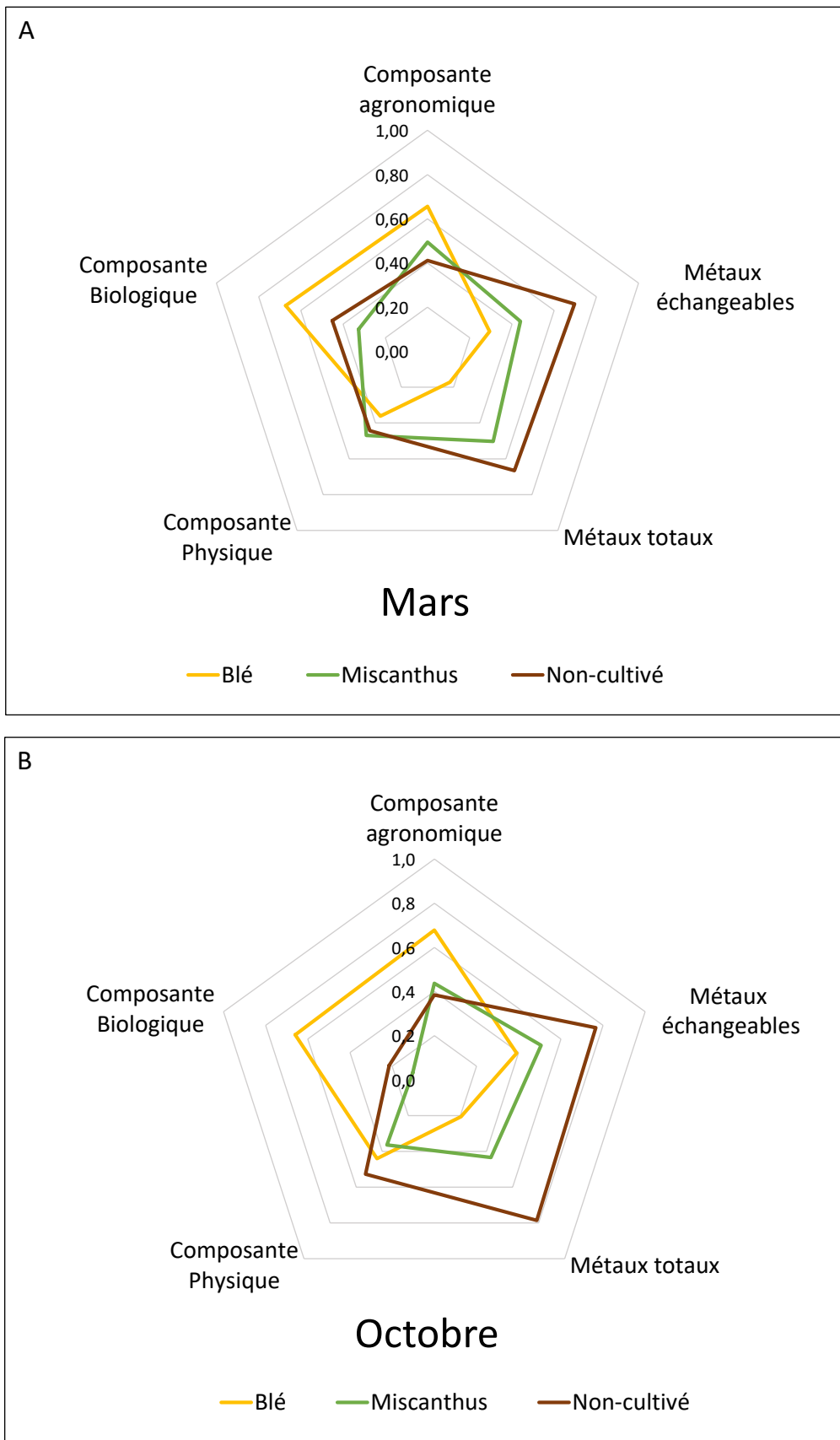
La composante biologique a, comme en mars, des résultats relativement très élevés dans le traitement blé (0.66), alors qu'ils sont particulièrement faibles et minimaux dans le Miscanthus (0.10) et que le traitement non-cultivé a des résultats proches du Miscanthus (0.21).

**Indice total** : La moyenne de l'ensemble des indices permet de distinguer les traitements : comme au mois de mars, le traitement non-cultivé présente l'indice total le plus élevé (0.55), le Miscanthus est intermédiaire (0.45), alors que le traitement blé présente l'indice total le plus faible (0.41).

Le Miscanthus a donc des résultats de composantes chimiques du sol (regroupant composante agronomique, métaux échangeables et métaux disponibles) qui sont intermédiaires entre les traitements blé et non-cultivé, alors que ses résultats de composante biologique sont particulièrement faibles. Cependant, même si ce n'est plus le cas en octobre, les résultats de la composante physique du sol sont tout de même les meilleurs dans le traitement Miscanthus au mois de mars.

**Tableau 13** : Résultats agrégés des cinq catégories de la qualité du sol étudiées en mars et en octobre dans les traitements blé, Miscanthus et non-cultivé.

Traitement	Composante agronomique	Métaux échangeable	Métaux totaux	Composante Physique	Composante Biologique	Indice total (moyenne)
<b>Mars</b>						
Blé	0.66	0.29	0.17	0.36	0.67	0.43
Miscanthus	0.49	0.44	0.50	0.47	0.33	0.45
Non-cultivé	0.41	0.70	0.67	0.44	0.45	0.53
<b>Octobre</b>						
Blé	0.68	0.39	0.21	0.44	0.66	0.47
Miscanthus	0.44	0.51	0.43	0.36	0.10	0.37
Non-cultivé	0.38	0.77	0.79	0.53	0.21	0.54



**Figure 17** : Diagrammes en radar des résultats agrégés des cinq catégories de la qualité du sol étudiées, en mars (A) et en octobre (B) dans les traitements blé, Miscanthus et non-cultivé.

## 4. Discussion

### 4.1 Propriétés chimiques

Afin de positionner les valeurs obtenues au regard des valeurs de référence, le choix s'est porté sur la Base de Données d'Analyse des Terres du Gis Sol<sup>1</sup> (BDAT, <http://bdat.gissol.fr>). Ces valeurs sont utilisées comme valeurs de référence ici car cette base de données contient les résultats d'analyses d'horizons de surface de sols cultivés effectuées sur l'ensemble du territoire national (Saby et al., 2014). Dans le cadre de cette étude, les valeurs de référence ont été sélectionnées sur le canton de Montereau-Fault-Yonne entre 2010 et 2014.

Aucun effet traitements n'a été enregistré sur certaines propriétés du sol, tel que le ratio **C/N**, dont les résultats, compris entre 9.7 (blé - octobre) et 11.7 (Miscanthus - mars) se situent autour de la valeur optimale en culture de 10, suggérée par Viaud et al. (2018).

Cependant, pour d'autres propriétés, telles que la CEC, le pH et la teneur en calcium total, bien qu'aucune différence significative n'ait été enregistrée entre traitements, les résultats tendent à être supérieurs dans le traitement blé et le Miscanthus est en position intermédiaire :

- Concernant la **CEC**, bien que les résultats de CEC ne soient pas significativement différents entre traitements ( $p = 0.3105$ ), avec des valeurs comprises entre 10.3 (traitement non-cultivé de mars) et 12.0  $\text{cmol+ kg}^{-1}$  (traitement Miscanthus octobre), les traitements Miscanthus et non-cultivé ont des résultats qui sont légèrement inférieurs à la CEC (BDAT, <http://bdat.gissol.fr>). En effet, les valeurs moyennes de CEC de la BDAT sont comprises entre 12.3 et 14.8  $\text{cmol+ kg}^{-1}$  Avec 13.1  $\text{cmol+ kg}^{-1}$  en mars et en octobre. Le traitement blé est donc le seul traitement dont les résultats sont inclus dans l'intervalle de la BDAT. D'après Glover et al. (2000), plus la CEC est élevée, plus le sol est de bonne qualité. En effet, la CEC d'un sol rend compte de sa capacité à retenir les éléments nutritifs facilement libérables (Aubert et al., 2006) et elle augmente notamment avec la teneur en  $C_{\text{org}}$  du sol (Trivedi et al., 2018, Sparks, 2003). Le fait que le  $C_{\text{org}}$  soit supérieur dans le traitement blé pourrait donc être l'un des facteurs

---

<sup>1</sup> Dans la suite du document, les valeurs de la Base de Données d'Analyse des Terres du Gis Sol (BDAT, <http://bdat.gissol.fr>) utilisées pour les comparaisons seront toujours celles enregistrées pour le canton de Montereau-Fault-Yonne et obtenues à partir de plus de 71 analyses réalisées entre 2010 et 2014.

expliquant pourquoi ce traitement a une valeur de CEC qui tend à être supérieure à celle des deux autres traitements.

- Concernant le **pH**, les valeurs de pH dans notre étude sont comprises entre 6.8 (non-cultivé – mars) et 8.2 (blé – octobre) et le Miscanthus avait un pH de 7.1 en mars et de 7.2 en octobre. Ces valeurs sont proches de l'intervalle moyen enregistré dans la BDAT pour ce paramètre où les résultats révèlent que le pH est compris entre 7 et 8 (<http://bdat.gissol.fr>). Cependant, bien que les différences entre traitements ne soient pas significatives ( $p > 0.05$ ), avec un pH de 8.1 en mars et 8.2 en octobre, le traitement blé a des valeurs qui sont supérieures d'environ 1 point de pH par rapport aux deux autres traitements. Différents auteurs ont suggéré des valeurs optimales pour ce paramètre comprises entre 6 et 7.8 afin de favoriser l'assimilation des nutriments par les plantes et de permettre une bonne qualité du sol (Truog, 1947, Schönegger et al., 2018, Viaud et al., 2018, Obriot et al., 2016). Les valeurs obtenues sous le traitement blé sont donc légèrement supérieures à cet intervalle optimal. Un des facteurs expliquant ces différences de pH pourrait être le chaulage ayant eu lieu en 2004 (1 t ha<sup>-1</sup> de chaux) sur la parcelle du traitement blé, alors qu'aucun apport de chaux n'a été effectué sur la parcelle des traitements Miscanthus et non-cultivé.
- Les teneurs en **calcium total**, comprises entre 3.8 (non-cultivé – mars) et 11.3 g kg<sup>-1</sup> (blé – octobre) se situent dans l'intervalle, compris entre 2 et 20 g kg<sup>-1</sup>, des teneurs en calcium dans les horizons supérieurs des sols de France pour cette zone, d'après la carte du Rapport sur l'Etat des Sols en France (Gis Sol, 2011). De plus, les résultats sont en moyenne supérieurs de 61% dans le traitement blé par rapport aux deux autres traitements, mais cette différence est non significative ( $p > 0.05$ ). Comme pour le pH, le chaulage de 2004 est probablement l'une des raisons expliquant ces variations entre traitements.

Les légères variations non significatives entre traitements de CEC, pH et calcium total, dont les résultats sont supérieurs dans le blé, semblent principalement résulter de la gestion des parcelles, incluant les apports de composts et le chaulage réalisés sur la parcelle du traitement blé, plutôt que de la différence d'occupation du sol (blé versus Miscanthus versus non cultivé).

Des différences significatives entre traitements ont été enregistrées pour le C<sub>org</sub>, le P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> Olsen, le K<sub>2</sub>O échangeable ainsi que pour certains métaux.

### *Carbone organique*

Concernant les teneurs en  $C_{org}$ , comprises entre 8.7 (non-cultivé – octobre) et 13.2 g kg<sup>-1</sup> (blé – mars), elles sont incluses dans l'intervalle de la BDAT, ou dépassent la valeur haute, (<http://bdat.gissol.fr>) qui se situe entre 5 et 12 g kg<sup>-1</sup> pour ce canton. Par ailleurs, les différences entre traitements révèlent qu'aux deux périodes d'échantillonnage, le traitement blé est celui qui a les teneurs en  $C_{org}$  les plus élevées alors que le traitement Miscanthus présente des résultats intermédiaires aux deux autres traitements. Ces résultats contredisent ceux de l'étude de Ruf et al. (2018b), qui mettent en évidence que la teneur en  $C_{org}$  dans les 20 premiers cm du sol de cultures annuelles (19.2 g kg<sup>-1</sup>) est inférieure à la teneur en  $C_{org}$  de différentes cultures pérennes incluant le Miscanthus (22.4 g kg<sup>-1</sup>), âgées de 6 ans en moyenne. Cette tendance inverse à nos résultats a aussi été observée par Emmerling et al (2017) qui comparent la teneur en  $C_{org}$  dans les 25 premiers cm du sol de cultures énergétiques annuelles (maïs en rotation avec du seigle ou de la triticales) à des cultures énergétiques pérennes (âgées de 5 ans) incluant du Miscanthus. Un des facteurs pouvant expliquer cette différence avec nos résultats est le labour subi par les cultures annuelles dans les études de Ruf et al. (2018b) et de Emmerling et al. (2017). En effet, dans notre étude, la parcelle du traitement blé n'est plus labourée depuis 2013 et les pailles sont restituées au sol ce qui est favorable à l'entretien de la teneur en carbone par comparaison à une culture annuelle labourée sans restitution des résidus (Jat et al., 2019, Choudhary et al., 2018, Sarker et al., 2018). Par ailleurs, nos résultats sont cohérents avec le fait que sur le site de la Bioferme, le labour a été arrêté sur l'ensemble des parcelles depuis 2013. Ce qui signifie que la culture de Miscanthus a été implantée sur une ancienne culture annuelle labourée (orge d'hiver) ayant potentiellement des teneurs en  $C_{org}$  inférieures à celles du traitement blé de 2019. Par ailleurs, les études effectuées sur des cultures de Miscanthus ayant moins de 10 ans n'enregistrent qu'une faible augmentation de la teneur en  $C_{org}$  par rapport à leur teneur initiale (Zimmermann et al., 2012, Ferchaud et al., 2016). En outre, lorsqu'une augmentation est enregistrée elle l'est principalement dans les 5 premiers cm du sol en raison de la présence du rhizome et des racines qui contribuent à l'apport de  $C_{org}$  et qui sont principalement localisés dans cette zone (Ferchaud et al., 2016). Il est donc cohérent que nos mesures, effectuées dans les 20 premiers cm du sol, n'aient pas permis de mettre en évidence des teneurs en  $C_{org}$  dans le traitement Miscanthus supérieures à celles du traitement blé. Nos résultats montrent également que le traitement non-cultivé est celui qui présente la teneur en  $C_{org}$  la plus faible. Ce résultat n'est pas surprenant, sachant que cette zone n'est plus cultivée depuis seulement 5 ans et qu'antérieurement il s'agissait d'une zone sous culture annuelle avec labour. Or, 5 ans ne suffisent pas pour observer une augmentation de la teneur en carbone, y compris pour un sol se rapprochant d'une prairie (Post and Kwon, 2000). De plus, aucun apport de compost n'a eu lieu sur cette zone,

contrairement à la parcelle du traitement blé, alors que c'est une pratique améliorante vis-à-vis de la teneur en carbone.

### *Phosphore*

Le **phosphore Olsen**, qui correspond à la forme de phosphore disponible pour la plante, est compris entre 0.08 (blé – octobre) et 0.14 g kg<sup>-1</sup> (Miscanthus - mars et octobre) dans les trois traitements et ces teneurs sont supérieures aux résultats enregistrés dans la BDAT dont l'intervalle est compris entre 0.065 et 0.075 g kg<sup>-1</sup> (<http://bdat.gissol.fr>). En outre, ces résultats sont aussi supérieurs au seuil d'impasse du blé au-dessus duquel il y a uniquement un prélèvement dit « de luxe » par la plante et qui est de 0.07 g kg<sup>-1</sup> sur un sol limoneux dans la région « Centre Bassin Parisien » (Denoroy et al., 2019). Seul le traitement blé a des concentrations en phosphore Olsen égales en octobre ou légèrement supérieures en mars (0.09 g kg<sup>-1</sup>) à la valeur optimale de 0.08 g kg<sup>-1</sup> recommandée par Viaud et al. (2018) pour une bonne qualité du sol. Cependant, le phosphore disponible étant souvent l'élément limitant la croissance des cultures (Vance et al., 2003), ces teneurs en phosphore Olsen sont donc favorables à la croissance des plantes dans l'ensemble des trois traitements. La valeur seuil proposée par Viaud et al. (2018) de 0.08 g kg<sup>-1</sup>, qui est relativement proche de l'optimum de 0.07 g kg<sup>-1</sup> sélectionné dans notre étude, constitue un compromis entre l'alimentation en phosphore des plantes, selon leur niveau d'exigence en cet élément, et un risque d'accumulation et d'entraînement du phosphore par érosion et ruissellement vers les eaux. En effet, actuellement la seule norme française limitant la teneur en phosphore est celle de la norme Eau Potable, qui fixe un seuil à 2.2 mg L<sup>-1</sup> pour la concentration en phosphore dans l'eau (Denoroy et al., 2019).

Concernant l'effet des traitements sur le phosphore, malgré des teneurs en phosphore total équivalentes entre les traitements (entre 0.8 g kg<sup>-1</sup> dans les traitements non-cultivé de mars et d'octobre et 1.0 g kg<sup>-1</sup> dans le traitement Miscanthus d'octobre), les teneurs en phosphore Olsen varient entre les traitements. En effet, aux deux périodes d'échantillonnage, la teneur en phosphore Olsen dans le blé est significativement inférieure par rapport aux teneurs dans les traitements Miscanthus et non-cultivé, et cela, malgré des apports d'engrais de fond (compost, 10 t ha<sup>-1</sup> 3 ans<sup>-1</sup>) sur ce traitement. Trois facteurs permettent d'expliquer les différences entre traitements :

- (i) Les exportations relativement importantes de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> par les cultures en rotation sur la parcelle en blé. En effet, à titre d'exemple le blé, qui est considéré comme une culture peu exigeante, exporte 80 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup> (pour un rendement de 9 t ha<sup>-1</sup>) (Denoroy et al., 2019) alors que le Miscanthus n'exporte que 10 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup> lorsqu'il est récolté en fin

d'hiver (RMT Biomasse, 2013), c'est-à-dire avec un rendement compris entre 10 et 30 t ha<sup>-1</sup> (Fradj et al., 2020).

- (ii) Le pH est un facteur qui influe de manière importante sur la disponibilité du phosphore (Truog, 1947). Nos résultats ont révélé que dans le traitement blé, le pH est compris entre 8.1 (mars) et 8.2 (octobre) alors que le pH des traitements Miscanthus et non-cultivé étaient compris entre 6.8 (non-cultivé – octobre et mars) et 7.2 (Miscanthus – octobre). Le pH plus élevé dans le blé est donc probablement l'un des principaux facteurs influençant la disponibilité du phosphore, qui est optimal entre 6.2 et 7.0 (Lindsay, 1979) et qui forme des précipités insolubles avec le calcium lorsque le pH est supérieur à 7.3 (Busman et al., 2002).
- (iii) En outre, des travaux ont mis en évidence la présence de bactéries endophytes dans les rhizomes et les racines du Miscanthus (Cope-Selby et al., 2017). Or, ces bactéries contribueraient à la solubilisation du phosphore (Kuklinsky - Sobral et al., 2004, Rodriguez and Fraga, 1999), ce qui pourrait expliquer les teneurs en phosphore Olsen relativement élevées au sein de cette parcelle.

### *Potassium*

Comme pour le P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> Olsen, les teneurs en **K<sub>2</sub>O échangeable** dans l'ensemble des traitements aux deux dates d'échantillonnage (tableau 7) sont supérieures aux valeurs moyennes enregistrées dans la BDAT (comprises entre 0.26 et 0.31 g kg<sup>-1</sup>, <http://bdat.gissol.fr>), excepté dans le traitement blé d'octobre pour lequel la concentration en K<sub>2</sub>O échangeable est de 0.30 g kg<sup>-1</sup>. De plus, ces résultats sont aussi tous supérieurs au seuil d'impasse du K<sub>2</sub>O échangeable pour le blé qui est de 0.15 g kg<sup>-1</sup> (Denoroy et al., 2019). Les teneurs en potassium échangeable sont donc relativement élevées au sein des trois traitements, ce qui est favorable à la fertilité du sol (Aubert et al., 2006). Cependant, bien qu'il n'existe pas de valeur seuil au-dessus de laquelle la concentration en potassium est considérée comme trop élevée au regard de la qualité du sol, il est tout de même nécessaire de rester vigilant car lorsque le ratio K<sub>2</sub>O/MgO est supérieur à 2.5, cela conduit à une diminution de la disponibilité du magnésium entraînant des carences (Aubert et al., 2006). En outre, actuellement, la seule réglementation concernant le potassium est celle de la norme Eau Potable qui spécifie que la teneur en potassium ne doit pas dépasser 12 mg L<sup>-1</sup> dans l'eau.

Concernant l'effet traitement sur le potassium, malgré des teneurs en potassium total non significativement différentes entre les trois traitements, avec des résultats compris entre 1.67 (Miscanthus – mars) et 1.75 g kg<sup>-1</sup> (blé – octobre), les teneurs en potassium échangeable sont



significativement les plus élevées dans le traitement Miscanthus, quelle que soit la période d'échantillonnage, en dépit des apports d'engrais de fond (compost,  $10 \text{ t ha}^{-1} 3 \text{ ans}^{-1}$ ) sur la parcelle du traitement blé. Contrairement au phosphore, l'effet des exportations sur la teneur en potassium disponible dans les traitements est moins évident. En effet, d'après Aubert et al. (2006) lorsque les pailles sont enfouies, le blé et l'orge exportent 5 et 7 kg de potassium par tonne récoltée respectivement et le colza exporte 10 kg de potassium par tonne récoltée. Avec un rendement compris entre  $10$  et  $30 \text{ t ha}^{-1}$  (Fradj et al., 2020), le Miscanthus exporte entre 3 et 10 kg de potassium par tonne récoltée (RMT Biomasse, 2013). Ces taux d'exportations relativement proches associés à des rendements plus faibles des cultures en rotation (orge 2017:  $8.7 \text{ t ha}^{-1}$ ; colza 2018 :  $3.4 \text{ t ha}^{-1}$ ; blé 2019 :  $9.3 \text{ t ha}^{-1}$ ) par comparaison au Miscanthus (2017 :  $12.7 \text{ t ha}^{-1}$ ; 2018 :  $14.8 \text{ t ha}^{-1}$ ; 2019 :  $14.6 \text{ t ha}^{-1}$ ) ne permettent donc pas d'expliquer les différences de concentration en potassium échangeable entre les traitements. En outre, des travaux ont mis en évidence que la CEC était l'un des principaux facteurs influant sur la teneur en K échangeable (Bilias and Barbayiannis, 2019). Mais, bien que légèrement supérieure dans le traitement blé, cette propriété du sol n'est pas significativement différente entre nos traitements. De plus, alors que des études soulignent que le chaulage sur sol acide, conduisant à une augmentation de pH, permet une augmentation de la fraction échangeable du potassium (Han et al., 2019, Scanlan et al., 2017), notre étude montre que, la parcelle chaulée en 2004 et ayant le pH le plus élevé est celle qui a les teneurs en potassium échangeable les plus faibles. Il est donc difficile dans notre étude d'expliquer ces différences de teneurs en potassium entre les traitements.

### *Eléments traces métalliques*

Les concentrations en ETM ont été comparées aux valeurs seuils suggérées par Mathieu et al. (2008) pour la région Île-de-France, qui correspondent au 95<sup>ème</sup> percentile de l'horizon labouré des sols cultivés, ainsi qu'aux valeurs seuils suggérées par Villanneau et al. (2008) pour l'ensemble du territoire national et établies à l'aide de vibrisses. Ces valeurs sont utilisées comme références car il n'existe pas en France de valeurs règlementaires indiquant si un sol est contaminé (Mathieu et al., 2008).

**Concernant les ETM totaux**, dans l'ensemble des traitements, les concentrations en cadmium, cuivre, nickel, plomb et zinc sont inférieures aux valeurs de références suggérées par Mathieu et al. (2008). Seul le chrome du traitement non-cultivé du mois de mars ( $65.6 \text{ mg kg}^{-1}$ ) dépasse la valeur seuil de  $65.2 \text{ mg kg}^{-1}$  suggérée par Mathieu et al. (2008). Cette différence est très faible et n'est plus visible au mois d'octobre, sachant que le traitement non-cultivé a une concentration en chrome de  $55.3 \text{ mg kg}^{-1}$ . En outre, les concentrations sont toutes inférieures à celles suggérées par Villanneau et al. (2008)

pour le cadmium, chrome, cuivre, nickel, plomb, zinc, molybdène, thallium et cobalt. Ce site n'est donc pas considéré comme contaminé. Concernant les teneurs en manganèse, aluminium, fer et magnésium, à notre connaissance il n'existe aucune valeur seuil suggérée pour la France.

Concernant l'effet traitements, des différences significatives sont enregistrées entre les traitements. D'une manière générale, le blé présente des valeurs d'ETM supérieures aux deux autres traitements, mais 2 groupes de réponse se distinguent :

- 1) pour le Ni, Mo, Co et Al et Fe, les teneurs du blé sont supérieures aux traitements Miscanthus et non-cultivé. Ces teneurs plus élevées sont probablement dues aux épandages de compost. En effet, même si le compost épandu respecte les valeurs seuils en ETM de la norme compost de boues NF U 44-095 (2002), les épandages successifs ont pu conduire à une légère augmentation des concentrations en ces cinq métaux sur cette parcelle. Par ailleurs, aucun de ces métaux ne figurent dans la composition des spécialités commerciales épandues sur la parcelle du blé (voir tableau 35 annexe 7).
- 2) pour le Cu, Mg, Tl et Fe, les teneurs sont supérieures dans le traitement blé par rapport au traitement non-cultivé mais pas par rapport au traitement Miscanthus qui présente des concentrations intermédiaires. Ces différences peuvent aussi être dues aux apports de compost sur la parcelle du traitement blé.

Par ailleurs, une variabilité temporelle des teneurs en ETM est observée. Ainsi, les concentrations en Pb, Co et Fe augmentent entre mars et octobre dans les trois traitements. Ces augmentations, bien que significatives, sont relativement faibles car elles n'excèdent pas 12%. Quel que soit le facteur impliqué dans ces différences (dépôt atmosphérique, hétérogénéité du site...), elles ne résultent pas d'une différence d'occupation du sol.

**Concernant les ETM biodisponibles et les facteurs de mobilité**, aucune différence entre traitements n'a été enregistrée concernant les concentrations disponibles ainsi que les facteurs de mobilité du cadmium, chrome, cuivre, nickel, plomb et zinc. Bien que des travaux ont mis en évidence la capacité du Miscanthus à diminuer la disponibilité des ETM (Nsanganwimana et al., 2014), les concentrations en métaux sont probablement trop faibles ici pour qu'un effet lié à la présence du Miscanthus soit détectable.

## 4.2 Composante biologique

### 4.2.1 Biomasse microbienne

Dans la parcelle en blé et aux deux périodes d'échantillonnage, les résultats de biomasse microbienne sont 16% supérieurs à la valeur de référence la plus élevée dans les sols cultivés bretons (291.5 mg C kg<sup>-1</sup> sol sec) suggérée Cluzeau et al. (2012). À l'inverse, dans le Miscanthus les résultats aux deux périodes d'échantillonnage sont 8% inférieurs à la valeur minimale enregistrée dans les sols cultivés bretons (203.8 mg C kg<sup>-1</sup> sol sec) par Cluzeau et al. (2012). Concernant les résultats dans le traitement non-cultivé, ils sont particulièrement faibles avec des résultats 30% inférieurs à la valeur minimale en culture suggérée par Cluzeau et al. (2012). Les résultats du traitement non-cultivé sont donc particulièrement faibles, sachant que sur des zones non-cultivées telles que les prairies, la biomasse microbienne est généralement plus élevée qu'en culture (Cluzeau et al., 2012).

Cependant, en ce qui concerne les valeurs de références proposées par Cluzeau et al. (2012), si elles ont été obtenues par la même méthode d'analyse que celle employée dans notre étude (fumigation-extraction), celles-ci sont issues de différents contextes pédoclimatiques à l'échelle d'une région. Or, il est reconnu que la biomasse microbienne est fortement influencée par les propriétés du sol (Dequiedt et al., 2011); il convient donc de positionner nos valeurs par rapport à des références obtenues dans des contextes relativement similaires. Ainsi, nos résultats dans les traitements blé, Miscanthus et non-cultivé sont 5%, 47% et 60% respectivement inférieurs aux résultats obtenus par Petitjean et al. (2019) sur le site cultivé de Colmar, ayant des caractéristiques pédologiques proches de notre site (texture limono-argileuse,  $C_{org} = 16 \pm 0.9$  g/kg, pH =  $8.5 \pm 0.0$ ). Il est à noter que, bien que faibles, les résultats du traitement non-cultivé sont cohérents avec ceux de Weigand et al. (1995) qui enregistrent une biomasse microbienne de 149 mg C kg<sup>-1</sup> de sol sec sur un sol ayant des caractéristiques similaires au traitement non-cultivé (argile = 31 %, limon = 45 %, sable = 24 %, pH = 7.4,  $C_{org} = 6.7$  g kg<sup>-1</sup>). En synthèse, les valeurs de biomasse microbienne obtenues dans notre étude sont donc proches des valeurs de référence dans le blé, alors qu'elles sont relativement faibles dans les traitements Miscanthus et non-cultivé.

Les résultats élevés dans le traitement blé sont cohérents avec le fait que ce traitement possède les teneurs en  $C_{org}$  et en  $N_{tot}$  du sol les plus importantes ainsi que les valeurs de pH les plus élevées. En effet, ces trois facteurs font partie des paramètres majeurs contrôlant la biomasse microbienne (Wardle, 1992, Serna - Chavez et al., 2013, Houot and Chaussod, 1995, Horrigue et al., 2016, Petitjean et al., 2019). En outre, les corrélations positives enregistrées entre la biomasse microbienne et le  $C_{org}$ ,

## Chapitre 2.2

le  $N_{tot}$  et le pH vont aussi dans ce sens. Nous pouvons donc conclure que les apports de compost et les restitutions de paille de blé contribuent positivement à la biomasse microbienne du sol (Brennan and Acosta-Martinez, 2017). En effet, en pourcentage du  $C_{org}$ , la biomasse microbienne reste supérieure aux valeurs obtenues dans les autres traitements.

Bien que les différences de biomasse microbienne entre les traitements Miscanthus et non-cultivé ne soient pas significatives, le Miscanthus présente des résultats légèrement supérieurs au traitement non-cultivé (+38% en mars et 27% en octobre), ce qui le place en position intermédiaire avec les deux autres traitements. Cette position est cohérente avec le fait qu'il soit aussi en position intermédiaire pour le  $C_{org}$ , le  $N_{tot}$  et le pH. Certains travaux ont mis en évidence un effet bénéfique de l'apport de litière de feuilles de Miscanthus sur la biomasse microbienne en raison de l'apport de composés organiques facilement extractibles (Al Souki et al., 2020). Dans notre étude, les apports de compost associés à l'enfouissement des pailles du traitement blé seraient en revanche plus favorables au développement de la biomasse microbienne que la litière de Miscanthus.

**Concernant le ratio  $C_{mic}/C_{org}$** , les résultats du traitement blé sont légèrement supérieurs aux valeurs communément retrouvées dans la littérature comprises entre 0.6 et 2.0% (Emmerling et al., 2017) alors que les résultats des traitements Miscanthus et non-cultivé sont inclus dans cette gamme. Aux deux dates de prélèvement, les valeurs  $C_{mic}/C_{org}$  sont significativement supérieures en blé, comparé au Miscanthus et à la zone non-cultivée, ces deux derniers traitements ne se différenciant jamais entre eux. Cette différence entre traitements s'explique pour les mêmes raisons que celles évoquées pour la biomasse microbienne (Wardle, 1992, Petitjean et al., 2019).

### 4.2.2 Potentiel d'activités enzymatiques

Les résultats d'activités enzymatiques de notre étude ont été positionnés au regard des valeurs obtenues par la plateforme Biochem-Env sur 300 sites cultivés (Mougin, 2018) dans le cadre du projet national de recherche du réseau de mesure de la qualité des sols (RMQS), excepté pour l'activité déshydrogénase qui n'était pas disponible. De la même manière, les résultats provenant de 84 sites cultivés du projet Bioindicateur de l'ADEME ont été utilisés afin de positionner la  $\beta$ -glucosidase, la phosphatase et l'arylamidase.

D'une manière générale, les valeurs d'activités enzymatiques mesurées sur notre site sont inférieures aux valeurs obtenues par la plateforme Biochem-Env mais supérieures ou très proches des valeurs du projet Bioindicateur de l'ADEME (<https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/>).

Les résultats de l'activité potentielle  **$\beta$ -glucosidase** dans les traitements blé, Miscanthus et non-cultivé sont 11%, 17% et 45% inférieurs respectivement à la moyenne de 15.8 mU g<sup>-1</sup> de sol sec obtenus par la plateforme Biochem-Env (Mougin, 2018). Cependant, ces mêmes traitements sont 84%, 72% et 12% supérieurs respectivement à ceux obtenus par le programme national Bioindicateur 2 de l'ADEME sur des sols cultivés français (7.63 ± 5.67 mU g<sup>-1</sup> de sol sec). <https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/>

De la même manière, la comparaison de nos résultats d'activité potentielle de la **phosphatase** met en évidence que nos résultats dans les traitements blé, Miscanthus et non-cultivé sont 59%, 55% et 39% inférieurs à ceux obtenus sur les 300 sites de la plateforme Biochem-Env (Mougin, 2018). Cependant, ces différences sont à relativiser avec d'autres études. En effet, la comparaison avec l'étude de Petitjean et al (2019) révèle que nos résultats étaient 291%, 336% et 485% supérieurs dans les traitements blé, Miscanthus et non-cultivé par rapport au site cultivé de Colmar ayant des caractéristiques similaires à ceux des traitements de notre étude (texture limono-argileuse, C<sub>org</sub> = 16 ± 0.9 g/kg, pH = 8.5 ± 0.0). De la même manière, nos résultats d'activité phosphatase sont supérieurs dans l'ensemble des traitements aux résultats de phosphatase acide (10.74 ± 14.01 mU g<sup>-1</sup> de sol sec) et alcaline (13.23 ± 5.72 mU g<sup>-1</sup> de sol sec) sur sol cultivé issus du programme national Bioindicateur 2 de l'ADEME (<https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/>).

Concernant les activités potentielles de l'**arylamidase**, elles sont inférieures de 36%, 41% et 62% dans les traitements blé, Miscanthus et non-cultivé respectivement par rapport à la moyenne de la plateforme Biochem-Env qui est de 8.73 mU g<sup>-1</sup> de sol sec (Mougin, 2018). Cependant, ces mêmes traitements sont supérieurs de 49% et 36% dans les traitements blé et Miscanthus par rapport à la moyenne de référence sur site cultivé (3.71 ± 2.36 mU g<sup>-1</sup> de sol sec) suggérée par le projet bioindicateur de l'ADEME (<https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/>) alors que les résultats du traitement non-cultivé sont inférieurs de 11% à cette même valeur de référence.

Concernant l'**uréase**, les résultats de l'activité potentielle des traitements blé, Miscanthus et non-cultivé sont inférieurs de 32%, 66% et 79% à la moyenne de 9.0 mU g<sup>-1</sup> sol sec obtenue par la plateforme Biochem-Env (Mougin, 2018). Cependant, les résultats des traitements blé et Miscanthus sont tout de même inclus dans la gamme de valeurs obtenues par Obriot et al. (2016) sur des sites limono-argileux cultivés (entre 2.6 et 11.9 mU g<sup>-1</sup> sol sec) ce qui n'était pas le cas du traitement non-

cultivé dont les valeurs sont de 27% inférieures au seuil minimal de 2.6 mU g<sup>-1</sup> de sol sec obtenues par Obriot et al. (2016).

Ces comparaisons permettent de situer nos résultats par rapport à la littérature. Cependant, il faut garder à l'esprit qu'il n'existe pas actuellement de valeurs d'activités enzymatiques, déterminées à partir de suffisamment de sites et d'analyses, permettant d'être considérées comme des valeurs de référence robuste pour le territoire français (Nathalie Cheviron, communication personnelle). De plus, il est difficile de conclure concernant les valeurs obtenues sur ce site, sachant qu'elles renseignent d'un potentiel d'activités enzymatiques relativement faible dans notre étude, comparé aux résultats de la plateforme Biochem-Env (Mougin, 2018), alors que ces potentiels sont plutôt élevés lorsqu'on les compare avec les résultats du projet Bioindicateur de l'ADEME (<https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/>).

### **Effet des traitements sur les activités enzymatiques**

Excepté pour la phosphatase, les résultats d'activités enzymatiques tendent à être supérieurs dans la parcelle de blé. Ces résultats sont cohérents avec ceux de la biomasse microbienne qui sont aussi supérieurs dans le traitement blé. En effet, les micro-organismes du sol font partie des principaux producteurs d'enzymes du sol (Karaca et al., 2010, Böhme and Böhme, 2006). Cependant, la seule enzyme significativement supérieure dans le traitement blé par rapport aux deux autres traitements est la **déshydrogénase**, ce qui est en accord avec le fait que cette enzyme est connue pour augmenter avec la population microbienne suite à l'apport d'amendements ainsi que de nutriments (Pichtel and Hayes, 1990).

Bien que pour l'ensemble des activités enzymatiques étudiées, le traitement Miscanthus présentait des résultats qui étaient intermédiaires aux deux autres traitements, ceux-ci n'ont pas toujours été significativement différents du traitement blé. En effet, les traitements blé et Miscanthus ont des activités **β-glucosidase** et **arylamidase** supérieures au traitement non-cultivé, ce qui signifie que ces deux traitements sont plus favorables que le traitement non-cultivé à la minéralisation du carbone et de l'azote respectivement (Gil-Sotres et al., 2005).

Concernant la **phosphatase**, Karaca et al. (2010) indiquent que cette enzyme est inhibée par le phosphore et notamment l'orthophosphate, qui est la forme de phosphore disponible pour les plantes et mesurée via l'extraction du phosphore Olsen (Plassard and Hinsinger, 2020). Nos résultats sont donc en contradiction avec cela, sachant que le phosphore Olsen présente des valeurs minimales dans le traitement blé. De la même manière, Karaca et al. (2010) soulignent que les apports de compost

favorisent l'activité de cette enzyme. Or, dans notre étude la seule parcelle ayant reçu des apports de compost est celle du traitement blé. Il est donc difficile d'expliquer les différences d'activité phosphatase entre les traitements.

- ➔ En synthèse, c'est dans le traitement blé que la minéralisation des nutriments est la plus importante et dans la zone non-cultivée qu'elle est la moins bonne, le Miscanthus se positionnant en intermédiaire.

### 4.2.3 Communauté lombricienne

Les résultats des communautés lombriciennes ont été comparés avec les résultats obtenus dans le cadre du projet bioindicateur 2 de l'ADEME sur 84 sites cultivés Français (<https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur>), ainsi que les résultats obtenus dans le cadre du projet RMQS-BioDiv (Cluzeau et al., 2012). Cependant, ces deux projets utilisent des méthodes d'échantillonnage différentes de notre étude. En effet, dans ces deux projets une solution formolée a été appliquée sur 1 m<sup>2</sup> associé au tri manuel d'un bloc de sol de 25 cm x 25 cm x 25 cm (<https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/prelev.php>). La différence de méthode peut aboutir à des valeurs d'abondance différentes (Andriuzzi et al., 2017). Comme, à notre connaissance, aucune valeur de référence publiée n'a été déterminée à partir de notre méthode (tri manuel et moutarde), les résultats obtenus seront aussi discutés au regard des valeurs proposées par l'Observatoire Participatif des Vers de Terre (OPVT [https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/OPVT\\_accueil.php](https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/OPVT_accueil.php), ressources personnelles non publiées) pour les sites cultivés français, dont la méthode est similaire à la nôtre.

Les abondances lombriciennes totales étaient, dans l'ensemble des traitements, supérieures à la moyenne française sur site cultivé, qui est de  $144 \pm 109$  ind m<sup>-2</sup> (projet Bioindicateur), excepté le traitement Miscanthus du mois de d'octobre ( $111 \pm 46$  ind m<sup>-2</sup>). En outre, aux deux périodes d'échantillonnage, seul le traitement Miscanthus présentait des valeurs inférieures aux valeurs de référence en culture ( $215$  ind m<sup>-2</sup>) suggérées par Cluzeau et al (2012) et obtenues par l'OPVT ( $206$  ind m<sup>-2</sup>). De la même manière, le traitement Miscanthus avait des valeurs de biomasse lombricienne totales inférieures à la moyenne française sur site cultivé de  $67.5 \pm 63.5$  g m<sup>-2</sup> (projet Bioindicateur de l'ADEME) alors que le traitement blé avait des valeurs supérieures de plus de 50% à cette moyenne et que le traitement non-cultivé du mois d'octobre avait une biomasse lombricienne équivalente. Concernant les catégories écologiques, quels que soient les traitements, les endogés dominaient les communautés lombriciennes, ce qui est classiquement observé (Peres et al., 2012). Les espèces

endogées des trois traitements avaient des abondances qui étaient comprises entre 530% (blé – mars) et 37% (*Miscanthus* – octobre) supérieures aux valeurs de référence pour cette catégorie écologique qui est de  $64 \pm 78$  ind m<sup>-2</sup> d'après le projet Bioindicateur de l'ADEME. En outre, le traitement *Miscanthus* d'octobre ( $88$  ind m<sup>-2</sup>) était le seul à avoir des résultats inférieurs à l'abondance de la catégorie endogée obtenue par l'OPVT ( $98$  ind m<sup>-2</sup>). Les abondances des anéciques (regroupant les anéciques stricts et les épi-anéciques) dans le traitement blé aux deux périodes d'échantillonnage étaient plus de deux fois supérieures à la valeur de référence de  $65 \pm 62$  ind m<sup>-2</sup> (projet Bioindicateur de l'ADEME) sur site cultivé. Les résultats obtenus étaient aussi supérieurs à l'abondance des anéciques sur site cultivé obtenue par l'OPVT ( $81$  ind m<sup>-2</sup>). A l'inverse, l'abondance des anéciques du traitement *Miscanthus* étaient, 61% en mars et 65% en octobre, inférieure à la valeur suggérée par le projet Bioindicateur de l'ADEME. L'abondance de la catégorie épigée du mois de mars suivait une tendance inverse à celles des endogées et anéciques. En effet, l'abondance de *L. castaneus*, la seule espèce de cette catégorie, était supérieure à la valeur de référence sur site cultivé ( $15 \pm 25$  ind m<sup>-2</sup>, projet Bioindicateur) de 106% et 187% dans les traitements *Miscanthus* et non-cultivé, alors que le traitement blé avait des résultats inférieurs de 20%. Les richesses spécifiques étaient supérieures, dans les traitements blé (mars et octobre) et non-cultivé du mois de mars, à la valeur de référence de  $4 \pm 2$  espèces et 0.63 respectivement sur site cultivé (projet Bioindicateur de l'ADEME) alors qu'elles étaient inférieures à cette valeur dans les traitements *Miscanthus* (mars et octobre) et non-cultivé du mois d'octobre. Concernant les indices d'équitabilité, ils étaient supérieurs à la valeur de référence de 0.63 suggérée sur site cultivé (projet Bioindicateur de l'ADEME) ainsi qu'à la valeur de 0.73 obtenue par l'OPVT. De la même manière, l'indice de diversité de Shannon pour l'ensemble des traitements était supérieur à la valeur de référence de  $0.96 \pm 0.55$  (projet Bioindicateur) et supérieur ou égal (traitement *Miscanthus* d'octobre) à la valeur de 1.17 obtenue par l'OPVT.

### **Effet des traitements sur les communautés lombriciennes**

La comparaison avec les valeurs de référence (projet Bioindicateur de l'ADEME, Cluzeau et al., 2012, OPVT) révèle donc que dans l'ensemble, excepté pour la catégorie des épigés, le traitement blé présente un état microbiologique de bonne qualité contrairement au traitement *Miscanthus* dont les valeurs sont souvent inférieures aux valeurs de référence, alors que le traitement non-cultivé a des valeurs relativement proches des références proposées sur site cultivé.

Alors qu'il est reconnu que l'absence de perturbation du sol favorise les communautés lombriciennes (Andriuzzi et al., 2017, Blouin et al., 2013), nos travaux ont donc mis en évidence que le traitement blé, qui est le traitement le plus perturbé par des interventions agricoles (travail du sol, application de traitements phytosanitaires), présente une meilleure qualité microbiologique



(structure globale, structure fonctionnelle et spécifique) par rapport aux traitements Miscanthus et non-cultivé. Cette observation contredit l'étude de Felten et Emmerling (2011), dont les résultats de richesse spécifique et d'abondance tendent, sans être significatifs, à être supérieurs dans le traitement Miscanthus par rapport aux cultures annuelles de céréales non labourées, le Miscanthus étant inférieur à la prairie ou jachère. En effet, les auteurs enregistrent une abondance lombricienne plus faible dans les cultures annuelles de céréales ( $102 \pm 45 \text{ ind m}^{-2}$ ) alors que le Miscanthus obtient une position intermédiaire ( $132 \pm 43 \text{ ind m}^{-2}$ ) et que la prairie et la jachère ont les résultats les plus élevés avec plus de  $230 \text{ ind m}^{-2}$  (Felten and Emmerling, 2011). Cependant, si nos résultats aboutissent à des classements des traitements différents de ceux de Felten et Emmerling (2011) (Céréales > non-cultivé > Miscanthus versus prairie-jachère > Miscanthus > céréales, respectivement), les valeurs d'abondance enregistrées dans notre étude ( $185 \pm 58 \text{ ind m}^{-2}$  en mars et  $111 \pm 46 \text{ ind m}^{-2}$  en octobre) sont proches de celles obtenues par Felten et Emmerling ( $132 \pm 43 \text{ ind m}^{-2}$ ), et nos valeurs de mars se rapprochent de celles de Ruf et Emmerling (2017) qui ont enregistré plus de  $200 \text{ ind m}^{-2}$  dans le Miscanthus.

Concernant la structure spécifique, nos résultats ont révélé une richesse spécifique inférieure aux valeurs de référence pour le traitement Miscanthus à l'inverse des traitements blé et non-cultivé, contrairement à Felten et Emmerling (2011) qui enregistrent une richesse spécifique dans le Miscanthus ( $5.1 \pm 0.9$ ) intermédiaire à leurs traitements céréale ( $3.7 \pm 1.1$ ) et jachère ( $6.4 \pm 1.0$ ).

L'ensemble de ces résultats contredit notre hypothèse de départ qui était que la culture de Miscanthus, en raison de l'absence de travail du sol depuis la mise en place du Miscanthus, associée à une absence de traitements phytosanitaires et à la présence d'une litière en surface constituant une ressource trophique en continu, serait toujours favorable aux lombriciens ; a contrario, le traitement blé serait défavorable. En effet, le sol sous le traitement blé est perturbé chimiquement via des apports d'insecticides et d'herbicides, connus pour nuire aux communautés (Pélosi et al., 2013). Bien que le travail du sol soit superficiel, les opérations de déchaumage et hersage mécaniques annuelles ont également une influence négative sur les communautés (Schmidt et al., 2001), comparativement à une situation sans aucune perturbation mécanique, comme c'est le cas sous Miscanthus. De plus, à l'inverse des traitements Miscanthus et non-cultivé, le sol du traitement blé est nu une partie de l'année, en été et au début de l'automne, les cultures de la rotation étant exclusivement des cultures d'hiver. De ce fait, le sol sous le traitement blé est plus sensible à l'évaporation et aux variations de température, ce qui est défavorable aux conditions de vie des lombriciens (Felten and Emmerling, 2011, Ernst et al., 2009a, Schmidt et al., 2001, Littlejohn et al., 2019), la sécheresse étant en effet un facteur de stress climatique majeur pour les communautés (Edwards and Bohlen, 1996). Nous pouvons noter cependant qu'en terme de répartition des espèces les résultats sont cohérents avec la littérature : en effet, l'espèce *L. castaneus*, qui vit dans la litière de surface et qui s'en nourrit (Curry,

2004), présente en effet en mars une abondance plus importante dans les traitement Miscanthus et non-cultivé que dans le traitement blé, qui, par ailleurs, abrite une abondance relativement élevée d'épi-anéciques (*L. terrestris*) défavorable à l'espèce *L. castaneus* du fait de leur compétition pour la nourriture en surface (Curry, 2004).

Ces valeurs plus élevées sous blé comparativement au Miscanthus pourraient s'expliquer par le fait que :

- Les propriétés chimiques et biologiques discutées plus haut, notamment la teneur en  $C_{org}$ , le  $N_{tot}$  et la biomasse microbienne, qui sont des sources de nourriture pour les vers de terre (Curry, 2004, Curry and Schmidt, 2007) sont plus élevées sous blé. Le  $N_{tot}$  serait d'ailleurs un facteur limitant la population lombricienne et sa teneur dans le sol serait particulièrement favorable aux endogés (Ernst et al., 2009b, Curry, 2004). Il n'est donc pas surprenant que la population des endogés, qui est géophages, soit plus de deux fois supérieure dans le blé par rapport au traitement Miscanthus ( $p=0.001$ ), cette catégorie écologique étant en grande partie responsable du différentiel d'abondance totale entre les traitements blé et Miscanthus.
- Tout comme pour la biomasse microbienne, nos résultats mettent en évidence qu'un travail du sol réduit, associé à un apport de nourriture suffisant (compost et enfouissement des pailles) est préférable au développement des communautés lombriciennes (notamment aux épi-anéciques et anéciques stricts), en comparaison d'une culture pérenne, même si cette dernière est non perturbée physiquement. Par ailleurs, parmi toutes les catégories écologiques, il est reconnu que les endogés sont ceux qui supportent le mieux les perturbations physiques, ce qui contribue à maintenir leur forte abondance sous le blé (Briones and Schmidt, 2017).
- Le ratio C:N élevé des résidus de culture de Miscanthus est défavorable à leur décomposition par les vers de terre (Ernst et al., 2009b). Felten et Emmerling (2011) soulignent la faible palatabilité de la litière de Miscanthus en raison (i) d'une faible teneur en azote des feuilles de Miscanthus, (ii) de leur ratio C:N élevé et (iii) de la taille importante des résidus, les feuilles peuvent faire plusieurs cm de large.

Les effets délétères qui pourraient être associés à l'application des pesticides sous blé, ne sont ici pas visibles car i) soit des doses apportées sont en deçà d'un seuil de toxicité, ii) soit les effets délétères sont contrebalancés par la qualité de l'habitat sous blé (faibles perturbations mécaniques, apport régulier de ressources trophiques appétantes).

### 4.3 Composante physique

#### 4.3.1 Densité apparente

Comparés à des valeurs de référence, les résultats de densité apparente des trois traitements étaient inférieurs à la valeur seuil de  $1.7 \text{ g cm}^{-3}$  proposée par Beylich et al (2010), au-dessus de laquelle des effets délétères sur la composante biologique du sol peuvent être enregistrés. Cependant, les résultats des traitements Miscanthus et non-cultivé étaient supérieurs à la valeur seuil de  $1.4 \text{ g cm}^{-3}$  au-dessus de laquelle la densité apparente n'est plus optimale pour la croissance des plantes dans un sol limono-argileux (USDA, 2014). Les propriétés physiques liées à la densité apparente sont donc particulièrement favorables dans le traitement blé.

Les principaux facteurs qui expliquent des densités apparentes plus faibles dans le traitement blé par rapport aux deux autres traitements sont la teneur en matière organique et l'activité biologique associée. En effet, l'augmentation de la matière organique favorise la diminution de la densité apparente (USDA, 2014). De plus, l'activité lombricienne serait aussi favorable à une réduction de la densité apparente (Blouin et al., 2013). Par ailleurs, les corrélations négatives enregistrées entre la densité apparente et la teneur en  $C_{org}$ , la biomasse microbienne, l'abondance lombricienne et la biomasse lombricienne confortent ce résultat.

Concernant le traitement Miscanthus, nos résultats sont proches de ceux de Das et al. (2016) qui enregistrent une densité apparente dans le Miscanthus de  $1.52 \text{ g cm}^{-3}$ . Cependant, il est intéressant de noter que les auteurs ont enregistré une diminution de la densité apparente du sol sous culture de Miscanthus dès la première année après son implantation sur une ancienne parcelle de maïs (Das et al., 2016). Les auteurs observent aussi que la densité apparente sous Miscanthus est inférieure à celle sous une culture annuelle de sorgho (non labourée) et ils attribuent cela à la biomasse racinaire plus importante sous Miscanthus associée à une réduction de la perturbation du sol (Das et al., 2016). Dans notre étude, en comparaison à une culture de blé associée à des pratiques favorables à la qualité du sol (travail réduit, apports de compost, restitutions des pailles), le Miscanthus n'a donc pas d'effet positif sur la densité apparente.

La parcelle non-cultivée est celle qui avait la densité apparente la plus élevée, ce qui peut s'expliquer par le fait qu'elle ait servi de zone de manœuvre aux engins agricoles entre 2012 et 2014 (Hargreaves et al., 2019).

En outre, le labour sur cette zone non-cultivée ainsi que sur la zone Miscanthus pendant plus de 30 ans jusqu'en 2013 aurait potentiellement contribué à l'augmentation de la densité apparente via la

diminution de la teneur en matière organique (Thomas et al., 1996), les teneurs en carbone organique étant significativement plus faibles dans la zone non-cultivée et la parcelle en *Miscanthus* que dans le blé (tableau 7). La densité apparente élevée sur ces deux traitements n'est donc pas surprenante au regard de l'historique des parcelles qui a une influence plus importante que l'usage actuel du sol.

Par ailleurs, la sécheresse de l'été 2019 (Météo France, 2019) est probablement l'une des causes de l'augmentation de la densité apparente entre mars et octobre dans les trois traitements (Zhang et al., 2019).

### 4.3.2 Stabilité structurale

Les diamètres pondérés moyens des tests de réhumectation lente et d'humectation rapide sont comparés aux classes de stabilités suggérées par Le Bissonnais et al (1996) afin d'évaluer les risques d'érosion et de ruissellement au sein des traitements. Le test d'humectation lente a révélé que le sol du traitement blé appartenait à la catégorie « instable » en raison de son MWD inférieur à 0.8 mm (Le Bissonnais, 1996). D'après la classification de Le Bissonnais (1996), cela signifie qu'en cas d'évènement pluvieux modéré, la battance est fréquente sur ce sol et qu'il y a un risque de ruissellement et d'érosion (Le Bissonnais, 1996). A l'inverse, les traitements *Miscanthus* et non-cultivé appartiennent à la catégorie « moyennement stable », ce qui signifie qu'ils sont moins sujets à ce type de menace. Ces résultats sont cohérents avec ceux du test d'humectation rapide dont les différences sont significatives entre le traitement blé et les traitements *Miscanthus* en mars ( $p < 0.0001$ ) et non-cultivé en octobre ( $p < 0.0001$ ). En effet, le traitement blé avait aussi, aux deux dates d'échantillonnage, un MWD inférieur au seuil de 0.8 mm en dessous duquel le sol est « instable » en cas d'évènement pluvieux intense, alors que les traitements *Miscanthus* de mars et non-cultivé d'octobre appartenaient à la catégorie « moyennement stable », ce qui signifie qu'ils sont moins sensibles à la battance. A l'inverse de la plupart des autres propriétés du sol étudiées, la stabilité structurale du sol était donc meilleure au sein des traitements *Miscanthus* et non-cultivé que dans le traitement blé.

Le fait que la culture annuelle de blé ait des résultats inférieurs au traitement *Miscanthus* va dans le sens de l'étude de Das et al. (2016) qui enregistrent une stabilité des agrégats plus importante dans le *Miscanthus* par comparaison à des cultures annuelles de sorgho et de maïs. D'une manière plus générale, Ruf et al. (2018b) ont mis en évidence que la stabilité des agrégats était supérieure de 65% dans des cultures pérennes, incluant du *Miscanthus*, par comparaison à des cultures annuelles. Les résultats de Chantigny et al. (1997) vont aussi dans ce sens sachant que les auteurs ont établi une stabilité des agrégats plus importante sous culture pérenne (*Medicago sativa*, *Phleum pratense*,

*Bromus inermis* and *Phalaris arundinacea*) que sous culture de blé (*Triticum aestivum*). D'après les auteurs, cet effet positif serait dû (i) à la teneur plus importante en  $C_{org}$  dans le sol des cultures pérennes, (ii) à la production d'exsudats racinaires favorisant la formation de complexes organo-minéraux plus nombreux sous cultures pérennes, (iii) à l'effet positif des champignons sur les macroagrégats et (iv) à la réduction du travail du sol sous cultures pérennes par comparaison aux cultures annuelles (Das et al., 2016, Ruf et al., 2018b, Chantigny et al., 1997).

L'hypothèse selon laquelle l'augmentation de la matière organique favoriserait la stabilité des agrégats a été mise en évidence depuis de nombreuses années (Tisdall and Oades, 1982). En effet, la matière organique favorise le développement de la biomasse microbienne qui est généralement positivement corrélée à la stabilité des agrégats (Chenu and Cosentino, 2011) en raison de la production de polysaccharides, de mucilages (Gupta and Germida, 2015, Duchicela et al., 2013) ainsi que de molécules hydrophobes (Jouany et al., 1992). En outre, la matière organique favorise aussi l'activité lombricienne qui contribue à l'augmentation de la taille des agrégats (Blouin et al., 2013, Hallam and Hodson, 2020). Dans notre cas, les apports de compost en maintenant un niveau élevé de  $C_{org}$  et de biomasse microbienne, n'induisent pas des niveaux de stabilité structurale plus élevés. Cela est peut être à mettre en relation avec la teneur en argile un peu élevée (27 %). Certains auteurs ont en effet mis en évidence que les effets d'apport de compost sur la stabilité structurale étaient moins importants dans les sols plus argileux, particulièrement aux faibles doses (Darwish et al., 1995, Aggelides and Londra, 2000).

Au regard des résultats relativement proches dans les traitements *Miscanthus* et non-cultivé, il semble que l'absence totale de perturbation mécanique, qui est le facteur commun de ces deux traitements, ait joué un rôle majeur dans l'amélioration de la structure du sol. Cette constatation va dans le sens de la méta-analyse de Nunes et al (2020a) qui met en évidence que la stabilité structurale est particulièrement sensible aux techniques de gestion des terres.

En outre, dans le traitement *Miscanthus*, le fait que le sol soit couvert en permanence d'une litière de feuilles mortes serait favorable au développement de champignons. En effet, le ratio C:N élevé de la litière de *Miscanthus* (Le Guillou et al., 2012) ainsi que sa teneur en lignine (Arnoult and Brancourt-Hulmel, 2015) associés à la diminution de l'évapotranspiration, et des conditions d'azote limitantes, ont pu favoriser le développement de champignons (Lauber et al., 2008), et cela malgré les teneurs élevées en phosphore défavorables à leur développement (Warnock et al., 2010). Or les hyphes mycéliens sont corrélés à la stabilité structurale (Qasim, 2015) et permettent d'augmenter la résistance à l'éclatement (Abiven et al., 2007) mis en évidence dans le test d'humectation rapide. Ces conditions d'azote limitantes, le *Miscanthus* n'étant pas fertilisé, favoriseraient également la

production de polysaccharides par les racines, dont la décomposition serait ralentie, ce qui contribuerait aussi à la stabilisation des agrégats (Hadas et al., 1998, Le Guillou et al., 2011), notamment en phase de production végétative (Strullu et al., 2011).

### 4.4 Approche multiparamètre de l'effet des traitements

L'indicateur de qualité du sol est une résultante de différents indicateurs influencés différemment par un couvert végétal associé à une combinaison de pratiques spécifiques à chaque traitement. Cette vision intégrée permet, même s'il reste beaucoup de questions à élucider et d'hypothèses à vérifier, de positionner les différents traitements les uns par rapport aux autres.

La composante agronomique du sol présente des résultats supérieurs dans le blé par rapport aux deux autres traitements, le Miscanthus étant celui avec les résultats les plus faibles pour cette composante. Cette différence est cohérente avec le fait que des analyses chimiques sont régulièrement réalisées par le responsable des cultures qui les corrigent si nécessaire par des apports d'amendements. Elle est donc maintenue artificiellement en bon état via des apports d'azote et les épandages de compost, qui apportent notamment du phosphore et du potassium ainsi que de la matière organique. A l'inverse, il n'y a pas de suivi ni d'apport sur les traitements Miscanthus et non-cultivé qui aurait permis de rééquilibrer cette composante au plus proche des valeurs optimales. Par ailleurs, ces résultats sont à relativiser avec le fait que les cultures annuelles avant l'implantation du Miscanthus, et deux ans avant l'implantation du traitement non-cultivé, étaient labourées, expliquant les teneurs plus faibles en  $C_{org}$  au sein de ces traitements. Néanmoins, au regard des résultats de cette composante du sol six ans après l'implantation du Miscanthus, l'évolution de la qualité agronomique du sol devrait être surveillée à long terme dans ce traitement afin de s'assurer que le Miscanthus n'ait pas d'effet délétère à long terme et notamment à la fin des vingt années de culture.

Concernant la composante « métaux totaux », les résultats, aux deux dates d'échantillonnage, étaient meilleurs dans le traitement non-cultivé et le traitement Miscanthus avait une position intermédiaire. Il faut noter que ces différences étaient très faibles, sachant que les trois traitements sont considérés comme étant non contaminés d'après les valeurs de référence suggérées par Mathieu et al. (2008) et Vilanneau et al. (2008). Cependant, le fait que le traitement blé ait les concentrations les plus élevées en ETM, est probablement lié aux épandages de compost tous les trois ans, sachant qu'aucun métal n'entre dans la composition des spécialités commerciales apportées (annexe 2, tableau 31). Concernant les métaux disponibles, les différences entre les indices sont à relativiser avec le fait que

## Chapitre 2.2

les concentrations en ETM disponibles sont très proches entre les traitements (tableau 9). Cependant, au regard du pH et de la matière organique plus élevés dans le traitement blé, on pourrait s'attendre à ce que les concentrations disponibles en métaux soient plus faibles dans ce traitement (Iqbal et al., 2013, Truog, 1947, Lopareva-Pohu et al., 2011a), ce qui n'est pas le cas.

Concernant la composante biologique du sol, les indices sont particulièrement élevés dans le blé aux deux dates d'échantillonnage, alors qu'ils sont particulièrement faibles dans le traitement Miscanthus. Les résultats relativement faibles dans le traitement Miscanthus sont probablement liés à la faible palatabilité des résidus de culture en raison (1) de leur faible concentration en azote, (2) de leur ratio C/N élevé et (3) de leur taille relativement importante (Felten and Emmerling, 2011). A l'inverse, les teneurs en matière organique élevées dans le traitement blé, liées à l'absence de labour et au retour au sol des résidus de culture, associées à une perturbation mécanique uniquement dans les dix premiers centimètres du sol, ont probablement contribué à un développement important des communautés lombriciennes. Cependant, ces différences entre traitements sont à relativiser avec le fait que les lombriciens sont surreprésentés dans cet indice par comparaison à la biomasse microbienne. Le traitement Miscanthus avait d'ailleurs des résultats intermédiaires de biomasse microbienne par comparaison aux deux autres traitements. Cette position intermédiaire du Miscanthus avait aussi été enregistrée pour l'ensemble des activités enzymatiques étudiées qui, pour rappel, n'ont pas pu être utilisées dans l'agrégation des données en raison de l'absence de résultat au mois de mars. L'utilisation d'indicateurs plus sensibles aux perturbations mécaniques et chimiques qu'à la qualité des sources de nourritures aurait peut-être conduit à de meilleurs résultats dans le traitement Miscanthus. Cette agrégation nous permet tout de même d'affirmer que sur notre site, la culture de Miscanthus ne bénéficie pas aux communautés lombriciennes du sol par comparaison à une culture annuelle non labourée et recevant du compost ou à une zone non cultivée.

Concernant la composante physique du sol, le traitement Miscanthus était celui présentant le meilleur résultat en mars, alors qu'il avait le moins bon résultat en octobre. A l'inverse, le blé avait une position intermédiaire aux deux mois d'échantillonnage. La constance de ces résultats sous blé s'explique par le fait que ce traitement était celui qui avait la densité apparente la plus faible aux deux mois d'échantillonnage. A l'inverse, la densité apparente sous Miscanthus est relativement élevée, par rapport au blé, aux deux mois d'échantillonnage, alors que la stabilité de ses agrégats après humectation rapide a diminué entre mars et octobre. L'effet positif du Miscanthus sur la composante physique du sol est donc variable au cours de l'année.

La moyenne totale de l'ensemble des catégories présente des valeurs supérieures dans le traitement non-cultivé, au regard des deux autres traitements, aux deux périodes d'échantillonnage. À l'inverse,

le traitement Miscanthus obtient une valeur intermédiaire et proche de celle du traitement blé en mars, alors qu'en octobre le traitement Miscanthus est celui ayant la moyenne la plus faible. Bien que ces résultats n'aillent pas dans le sens de la littérature, qui met en évidence que la qualité du sol sous Miscanthus est généralement meilleure que sous culture annuelle, ils sont à relativiser avec le fait que :

- le traitement Miscanthus a été mis en place sur une parcelle qui avait potentiellement une qualité du sol plus faible que l'actuel traitement blé, notamment en raison de la pratique du labour,
- ces traitements ne sont différenciés que depuis 5 ans ce qui est probablement trop tôt pour évaluer l'effet d'un changement de pratique,
- la comparaison du Miscanthus avec les cultures annuelles, souvent considérées comme intensives et dégradant la qualité des sols, est ici rendue complexe ici car l'agriculteur s'est engagé dans une démarche d'amélioration des pratiques, y compris sous cultures annuelles.

La prise en compte de l'ensemble de ces points permet de conclure que la qualité du sol sous traitement Miscanthus dans notre étude n'est pas si mauvaise par rapport aux deux autres traitements. L'intérêt de cette étude est qu'elle permet d'avoir un aperçu « dans le monde réel » des différences de qualité du sol entre les trois traitements. Cependant, une analyse *ceteris paribus* de ces trois traitements sur le long terme permettrait de conclure quant à l'intérêt du Miscanthus pour la qualité du sol en zone agricole.

## 5. Conclusion

D'une manière générale, nos résultats ne mettent pas en évidence d'effet positif de la culture du Miscanthus sur la qualité du sol, excepté pour la stabilité des agrégats en mars, par comparaison à une culture de blé sous travail du sol réduit et à une zone non cultivée. Ces résultats sont donc en contradiction avec la littérature, où le Miscanthus a généralement une position intermédiaire entre une zone non-cultivée de type prairie ou jachère et une culture annuelle (Ruf et al., 2018b, Felten and Emmerling, 2011). Cela étant, les résultats enregistrés dans le Miscanthus sont tout de même proches de ceux enregistrés par d'autres auteurs (Felten and Emmerling, 2011, Das et al., 2016), ce qui signifie que l'effet du Miscanthus sur la qualité du sol dépend aussi de ce à quoi on le compare. En d'autres termes, comparé à une culture de blé ayant un sol de très bonne qualité en raison de bonnes pratiques



## Chapitre 2.2

agricoles associées à des propriétés inhérentes favorables (texture limono-argileuse), la culture du *Miscanthus* n'a pas d'influence bénéfique sur la qualité du sol. En revanche, dans des contextes pédoclimatiques différents associés à des techniques de gestion différentes, la culture du *Miscanthus* pourrait potentiellement améliorer la qualité du sol (Felten and Emmerling, 2011, Das et al., 2016, Ruf et al., 2018b). Afin d'optimiser les recommandations aux agriculteurs et notamment l'attribution des subventions pour les Surfaces d'Intérêt Écologique, il serait donc nécessaire de définir dans quel contexte la culture du *Miscanthus* pourrait être bénéfique à la qualité du sol. Néanmoins, il faut garder à l'esprit que dans notre étude, seule la qualité du sol a été évaluée alors que des travaux ont mis en évidence l'intérêt du *Miscanthus* sur la biodiversité et notamment les populations d'oiseaux (Bellamy et al., 2009), de lézards (Littlejohn et al., 2019) et de petits mammifères (Semere and Slater, 2007) par comparaison à des cultures annuelles, ce qui n'a pas été étudié ici.





## Chapitre 3

Effet des cendres de *Miscanthus × giganteus* sur la qualité du sol



# 1. Introduction

Afin de réduire les émissions de gaz à effet de serre, l'Union européenne s'est fixée comme objectif de produire 32% d'énergie à partir de ressources renouvelables d'ici à 2030 (Commission Européenne, 2016). En 2015, 17% de l'énergie produite par l'Union européenne était issue de la biomasse dont 70% provenait de biocarburants solides (charbon exclu) et notamment du bois à 56% (AEBIOM, 2017). En 2019, la superficie des terres consacrées aux cultures lignocellulosiques était estimée à 50 764 ha au total pour l'Union européenne dont 29% pour le Miscanthus, 51% pour le saule et 25% pour le peuplier (Sánchez et al., 2019). D'après Iqbal et Lewandowski (2017), compte tenu de la croissance des besoins en biomasse et de la nécessité de s'approvisionner de manière durable, la production et l'utilisation de biomasse issue de cultures énergétiques pérennes de graminées devraient augmenter dans les années à venir. En raison de leur rendement élevé et de leur récolte annuelle, la baldingère faux-roseau (*Phalaris arundinacea*), le Panic érigé (*Panicum virgatum*), la canne de Provence (*Arundo donax*) et le Miscanthus (*Miscanthus spp.*) ont été identifiés comme étant les graminées énergétiques ayant le meilleur potentiel de production de biomasse des régions tempérées (Lewandowski et al., 2003). En 2018, 123 000 ha de Miscanthus étaient cultivés à travers le monde dont 20 000 ha en Europe où la biomasse est majoritairement utilisée pour la production d'énergie (Lewandowski et al., 2018a). Avec un rendement généralement compris entre 10 et 20 t ha<sup>-1</sup> une fois la culture établie et une teneur en énergie équivalente à celle du bois (environ 17 MJ t<sup>-1</sup> (méga joule par tonne)), l'utilisation du Miscanthus pourrait potentiellement se substituer à celle du bois (Witzel and Finger, 2016). L'augmentation de l'utilisation de biomasse pour la production d'énergie va donc conduire à une augmentation de la production de cendres. En raison de leur statut de déchet (Commission européenne, 2000), les cendres sont généralement envoyées en centre d'enfouissement (Boulday and Marcovecchio, 2016a), alors que cette technique d'élimination est coûteuse et néglige leur potentiel de valorisation agronomique (Insam and Knapp, 2011).

Afin de trouver des alternatives à l'élimination de la cendre, de nombreuses études ont été menées depuis quelques décennies concernant l'utilisation de la cendre issue de biomasse ligneuse dans l'agriculture et la sylviculture (Demeyer et al., 2001). Une des alternatives proposées par da Costa et al. (2020), suite à une analyse du cycle de vie, est l'utilisation des cendres de biomasse ligneuse comme fertilisant ou agent de chaulage. En effet, ses capacités neutralisantes permettent de tamponner l'acidification du sol et de l'eau des forêts boréales (Lerner and Utzinger, 1986, Lundström et al., 2003, Meiwes, 1995) et de réduire (i) la toxicité du manganèse et de l'aluminium naturellement présents (Demeyer et al., 2001), (ii) la lixiviation de certains nutriments dans certains sols (Demeyer et al., 2001)

et (iii) l'absorption de métaux par les cultures (Ochecova et al., 2014). Elles permettraient en outre d'augmenter la stabilisation de la matière organique initialement présente dans le sol (Reed et al., 2017). De plus, excepté la part de l'azote perdue par volatilisation pendant la combustion (Demeyer et al., 2001, Odlare and Pell, 2009), la cendre contient presque tous les nutriments nécessaires aux cultures (Ingerslev et al., 2014). Parmi ces nutriments, le phosphore dans les cendres de bois et de résidus de culture peut varier de 0.2% jusqu'à 37.5% de la masse sèche (Schiemenz et al., 2011, Vassilev et al., 2017). Bien qu'il soit abondant dans de nombreux sols, cet élément n'est généralement pas présent sous forme disponible (Vance et al., 2003). C'est le cas de 25% des sols en Europe (Chojnacka et al., 2020) alors que les réserves en roches phosphatées sont principalement localisées en dehors de l'Europe, notamment au Maroc d'où elles sont importées (Cooper et al., 2011, Geissler et al., 2019). L'utilisation de la cendre comme fertilisant agricole permettrait de boucler le cycle des nutriments, notamment en raison de ses teneurs en macronutriments (P, K, Ca, S) et micronutriments (Zn, Cu, Mg) (Cruz-Paredes et al., 2017a, Gómez-Rey et al., 2012, Li et al., 2016, Ochecova et al., 2014, Schiemenz et al., 2011). L'ensemble de ces éléments conduit à un accroissement de l'intérêt qui est porté à la valorisation des cendres en agriculture.

Cependant, l'effet des cendres sur la production de biomasse ne fait pas réellement consensus, des résultats contradictoires ayant été publiés dans la littérature (Krejzl and Scanlon, 1996, Demeyer et al., 2001, Patterson et al., 2004). En effet, l'effet des cendres dépend des propriétés des cendres elles-mêmes mais aussi des conditions initiales du milieu où la plante s'est développée, ainsi que de l'espèce de plante cultivée.

Il est alors important d'améliorer nos connaissances sur l'effet des apports de cendres sur la qualité du sol. De nombreux travaux ont mis en évidence qu'une évaluation robuste de la qualité du sol doit prendre en compte les composantes chimique, biologique et physique du sol (Bünemann et al., 2018, Karlen et al., 2003, Zornoza et al., 2015). Les indicateurs physico-chimiques, tels que la stabilité structurale, la densité apparente, le pH, le  $C_{org}$ , la teneur en nutriments et en métaux, sont connus et utilisés depuis plusieurs décennies pour évaluer la qualité du sol (Bünemann et al., 2018). Certaines études ont évalué l'effet des cendres sur ces propriétés du sol et ont mis en évidence une augmentation du pH (Demeyer et al., 2001), du phosphore disponible (Schiemenz and Eichler-Löbermann, 2010) ainsi que de la stabilité structurale du sol (Moragues-Saitua et al., 2017) mais aucune étude n'a évalué l'impact des cendres de biomasse sur ces paramètres physico-chimiques simultanément. De plus, des travaux ont souligné l'importance d'évaluer des indicateurs biologiques qui contribuent au fonctionnement du sol (Kibblewhite et al., 2008a) et répondent rapidement aux stress environnementaux et anthropiques (Cortet et al., 1999, Pérès et al., 2011, Sousa et al., 2006). Quelques récentes études ont particulièrement porté sur l'effet de différentes doses de cendres de

biomasse sur les composantes chimique et biologique du sol (Bang-Andreasen et al., 2017, Cruz-Parades et al., 2017b, Huotari et al., 2015, Li et al., 2016, Reed et al., 2017, Saarsalmi et al., 2005). Les cendres, en augmentant le pH peuvent avoir un effet délétère sur les mycorhizes (Saarsalmi et al., 2005) ; ce résultat n'est cependant pas observé par Cruz-Parades et al. (2017b) qui enregistrent une amélioration du statut mycorhizien après l'apport de cendres. Bien que des connaissances de l'effet des cendres sur la composante microbienne commencent à être recensées, des informations supplémentaires sont nécessaires pour encadrer l'utilisation des cendres. Ainsi, Silva et al. (2019) recommandent d'évaluer l'influence des cendres de biomasse sur l'activité enzymatique, la biomasse microbienne et les communautés lombriciennes. Les quelques études de terrain relatives à l'effet des cendres de biomasse sur les lombriciens révèlent que l'effet des cendres sur les communautés évolue dans le temps avec un effet neutre à positif plus d'un an après l'épandage, et que cet effet dépend du type de cendre, du site et du moment entre l'application et l'évaluation des communautés (Mortensen et al., 2020, McTavish et al., 2020b). Cependant, ces études se concentrent sur l'effet des cendres de bois et dans des sols acides de forêts.

Par ailleurs, afin de s'assurer de la durabilité d'une pratique culturale, l'étude du rendement et de la qualité des cultures a été recommandée et utilisée dans des travaux relatifs à l'évaluation de la qualité du sol (Obriot et al., 2016, Viaud et al., 2018). Concernant le blé, la qualité de la culture peut être appréhendée à travers notamment la teneur en protéines du grain de blé, car cette teneur est un élément clé de la création de la plupart des produits alimentaires à base de blé, tels que le pain, les pâtes, les biscuits et les nouilles (Duncan et al., 2018).

En parallèle de tous ces éléments, dans le cas particulier de l'épandage de cendres, une vigilance doit être apportée à leur teneur en métaux qui dépend (i) du sol sur lequel la plante produisant la biomasse s'est développée (niveaux de contamination du sol, propriétés physico-chimiques : texture, pH, teneur en MO), (ii) de l'espèce de plante et des conditions de combustion (James et al., 2012; Vassilev et al., 2017; Wang et al., 2012; Zajac et al., 2018), (iii) de leur localisation dans la chaudière (Haglund, 2008). Ainsi, les teneurs en métaux des cendres doivent être analysées avant que les cendres ne soient recommandées à des fins de fertilisation (Zajac et al., 2018). Cette recommandation ne peut se faire de manière homogène à l'échelle du territoire européen, car la législation concernant les valeurs seuils en métaux lourds varie d'un pays à l'autre au sein de l'Union européenne (Silva et al., 2019), avec, par exemple, une concentration en cadmium ne devant pas dépasser  $1.5 \text{ mg kg}^{-1}$  en Allemagne,  $30 \text{ mg kg}^{-1}$  en Suède (Oberberg and Supanci, 2009 ; Van Eijik et al., 2012) et  $20 \text{ mg kg}^{-1}$  en France (arrêté du 08/01/98 applicable aux épandages de boues sur les sols agricoles). Par ailleurs, au-delà des caractéristiques propres aux cendres, la contribution de l'épandage des cendres sur la concentration en métaux lourds du sol dépend également de la quantité de cendres épandues (Huotari et al., 2015).



Si les cendres peuvent être sources de métaux en fonction des différents paramètres listés ci-dessus (type de plante, caractéristiques du sol, etc.), l'apport de cendres peut aussi conduire à une réduction de la solubilité des métaux, en favorisant leurs liaisons sous des formes insolubles à la matière organique du sol (Augusto et al., 2008) dues à l'augmentation du pH ; ceci est notamment observé pour le fer, le manganèse, le zinc, le cuivre, le plomb et le cadmium, (Demeyer et al., 2001; Huotari et al., 2015, Johansen et al. 2019), conduisant à des effets positifs sur la composante biologique des sols. En effet, l'étude de Johansen et al. (2019) montre qu'à teneur égale en cadmium, l'abondance des nématodes est supérieure dans un sol ayant reçu un apport de 6 t ha<sup>-1</sup> de cendres de bois par comparaison à un apport de 3 t ha<sup>-1</sup>.

La valorisation des cendres de cultures énergétiques par un retour au sol de ses composants pourrait être un moyen de contribuer à la durabilité de la filière thermique du Miscanthus. Il est à noter qu'à ce jour, les seules études portant sur les cendres du Miscanthus, se focalisent sur la caractérisation de la composition chimique des cendres (Baxter et al., 2012; Lanzerstorfer, 2017; Michel et al., 2012) et à notre connaissance, aucune n'a évalué l'influence d'un épandage de cendres de Miscanthus au terrain. Si la connaissance de la composition chimique des cendres en ETM est une étape importante dans la caractérisation des cendres, elle n'est pas suffisante pour estimer le risque de toxicité des cendres de biomasse, notamment sur la faune du sol (Silva et al., 2019). Il est nécessaire de mener des tests de toxicité afin de rendre compte de l'effet des cendres de Miscanthus sur la composante biologique des sols, et plus largement, il est nécessaire de conduire des études rendant compte de l'effet des cendres de Miscanthus sur la qualité du sol dans son ensemble (Silva et al., 2019).

Dans ce contexte, les objectifs des études présentées dans ce chapitre sont (i) d'évaluer l'effet de différentes doses de cendres de Miscanthus, en conditions contrôlées, sur la survie, les changements de biomasse, la reproduction et le comportement d'évitement de l'espèce lombricienne endogée *Aporrectodea caliginosa* (chapitre 3.1 et 3.2) et (ii) d'étudier l'effet d'un apport de différentes doses de cendres de Miscanthus sur la qualité du sol d'un champ de blé (chapitre 3.3).





## Chapitre 3.1

Effet des cendres de *Miscanthus × giganteus* sur la survie, les changements de biomasse, la reproduction et le comportement d'évitement de l'espèce lombricienne endogée *Aporrectodea caliginosa*

*Le chapitre 3.1 correspond à un article qui a été soumis dans la revue internationale Ecotoxicology*

## Résumé

Les études des chapitres 2.1 et 2.2 se sont concentrées sur l'évaluation de l'effet de la culture du *Miscanthus* sur la qualité du sol. Elles ont permis de mettre en évidence que l'effet de cette culture dépend du site sur lequel elle est cultivée ainsi que de la culture avec laquelle elle est comparée. Mais la phase de culture n'est pas la seule étape de la filière thermique du *Miscanthus* ayant une influence sur la qualité du sol. En effet, le *Miscanthus* est principalement utilisé pour la production d'énergie en Europe, notamment via le processus de combustion qui conduit à la formation de cendres. Les cendres de biomasse ont actuellement le statut de déchets en Europe et à ce titre, elles sont principalement envoyées en centre d'enfouissement. En plus d'être coûteux, ce mode d'élimination n'est pas durable et entraîne une perte des nutriments et de minéraux extraits par la plante. En raison de leurs teneurs en phosphore, potassium et autres nutriments et de leur potentiel neutralisant, les cendres de *Miscanthus* pourraient être utilisées comme fertilisant ou agent de chaulage en agriculture. Cependant, très peu de travaux se concentrent sur les cendres de *Miscanthus* et aucune étude n'évalue leur influence sur la qualité du sol via une évaluation des composantes chimique, biologique et physique. Les trois chapitres qui suivent (3.1, 3.2 et 3.3) ont donc pour objectif d'évaluer l'effet d'un apport de cendres de *Miscanthus* sur la qualité du sol.

L'effet des cendres de biomasse sur la composante biologique du sol est très peu étudié. En raison de leur rôle dans la qualité du sol, les lombriciens sont des indicateurs clés de cette composante. Alors que l'effet des cendres de *Miscanthus* sur les organismes du sol n'a encore jamais été étudié, l'objectif principal du travail qui suit (chapitre 3.1) est de déterminer l'influence des cendres de *Miscanthus* sur les lombriciens. L'effet des cendres sur la survie, les changements de biomasse, la reproduction et le comportement d'évitement de l'espèce endogée *Aporrectodea caliginosa* a été évalué. Les tests ont utilisé des doses de cendres de *Miscanthus* allant de 0 à 50 t ha<sup>-1</sup> (0, 1, 2,5, 5, 10, 25, 50) dans du sol Kettering Loam. Les résultats ont montré que les cendres de *Miscanthus* n'avaient pas d'effet significatif sur la survie, la biomasse et la reproduction d'*A. caliginosa*. Cependant, des tendances négatives ont été observées sur la biomasse à partir de 2.5 t ha<sup>-1</sup> et sur la reproduction à partir de 10 t ha<sup>-1</sup>. De plus, une réponse d'évitement significative a été enregistrée dans le traitement de 50 t ha<sup>-1</sup> et, d'après la norme ISO 17512, les cendres de *Miscanthus* auraient un effet délétère sur la fonction d'habitat du sol à partir de 25 t ha<sup>-1</sup>, sachant que plus de 80 % des individus se trouvaient dans le traitement contrôle. Cet effet négatif sur la fonction d'habitat du sol pourrait être lié à différents facteurs, notamment la présence de métaux lourds dans les cendres, une modification du pH, de la texture et/ou un stress osmotique. Des études supplémentaires conduites en laboratoire sur des

## Chapitre 3.1

périodes plus longues et avec une gamme de traitement de cendres plus fines ainsi que des études sur le terrain sont nécessaires afin de valider les résultats et de déterminer de manière plus précise la valeur seuil des cendres induisant une perte de fonction de l'habitat du sol.

Effect of *Miscanthus* × *giganteus* ash on survival, biomass, reproduction and avoidance behaviour of the endogeic earthworm *Aporrectodea caliginosa*

**Author names and affiliations**

**Claire BRAMI<sup>a,b,c\*</sup>, Guénola PERES<sup>a</sup>, Safya MENASSERI-AUBRY<sup>a</sup>, Jane Darcy BYERS-WOODS<sup>b</sup>, Thierry JACQUET<sup>c</sup>, Christopher Nathan LOWE<sup>b</sup>**

<sup>a</sup> : UMR SAS, Institut Agro, INRAE, 35000 Rennes, France

<sup>b</sup>: University of Central Lancashire, Preston, UK

<sup>c</sup>: PhytoStore, 53 avenue Philippe Auguste, 75011 Paris, France

\* corresponding author: [c.brami@phytoStore.com](mailto:c.brami@phytoStore.com)

## Abstract

To achieve the EU's targets for reducing energy production from fossil fuels, the use of energy crops, such as *Miscanthus × giganteus*, is increasing resulting in a corresponding increase in waste ash from incineration. The chemical properties of *Miscanthus* ash (e.g. phosphorus and potassium content) may allow this waste material (currently landfilled) to be used as a fertilizer, but no information exists on the effect of the ash on the biological properties of soil. The main aim of this study was to determine the potential impact of *Miscanthus* ash on earthworms by assessing the effect on survival, change in biomass, reproduction and avoidance behaviour of the geophagous, soil dwelling earthworm, *Aporrectodea caliginosa*. Tests utilised a range of *Miscanthus* ash doses from 0 to 50 t ha<sup>-1</sup> (0, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50). Results showed that *Miscanthus* ash had no significant impact on *A. caliginosa* survival, biomass and reproduction, but negative trends were observed for biomass from 2.5 t ha<sup>-1</sup> and for reproduction from 10 t ha<sup>-1</sup>. In contrast, a significant avoidance response was observed in the 50 t ha<sup>-1</sup> treatment and according to ISO guideline 17512 there is a negative impact of the *Miscanthus* ash on soil habitat function at 25 t ha<sup>-1</sup> and above as more than 80% of earthworms were in the control soil. It is suggested that this negative effect on soil habitat function could be attributed to a range of factors including the presence of heavy metals in the ash and a change in substrate pH, texture and/or osmotic stress. Further laboratory-based studies conducted over extended time periods with a more refined range of ash doses and associated field-based studies are required to validate the results and determine a more precise assessment of the threshold ash value inducing a loss of soil habitat function.

## Keywords

*Aporrectodea caliginosa*; *Miscanthus × giganteus*; Biomass ash; Ecotoxicology; Avoidance behaviour



## 1. Introduction

In the last decade the use of biomass to produce energy has increased across Europe. The potential of *Miscanthus × giganteus* (here after called Miscanthus) as an energy crop is widely recognised due to low maintenance costs (Lewandowski et al., 2000), high yields of 10 to 25 t ha<sup>-1</sup>yr<sup>-1</sup> (Lewandowski et al., 2000) and low moisture content of harvested biomass, reducing energy losses during the combustion process (Morandi et al., 2016). In addition, incineration of Miscanthus leads to ash production of between 2 and 3.5% (European Biomass Association, 2017), substantially below the maximum permitted value of 6% stated in the solid biofuel standard (ISO 17225-6, 2014). In 2016 there were 20,000 ha of Miscanthus in Europe utilised mainly for heat and power generation (Lewandowski et al., 2016), with a potential annual ash production of between 4,000 and 17,500 tonnes (authors own calculation).

Currently the main outlet for biomass ash is landfill (Boulday and Marcovecchio, 2016). However, it has been suggested that, due to high levels of key nutrients such as phosphorus and potassium, the ash could be used as fertiliser (Cruz-Paredes et al., 2017a). Nevertheless, the benefits of ash as a fertiliser depend on source, application rate and the target plant/crop. For example, Ots et al. (2017) recorded an increase in birch productivity following application of a 25 t ha<sup>-1</sup> mixture of wood and oil shale ash while Füzési et al. (2015) recommended to limit annual application rates of wood ash to between 1 and 5 t ha<sup>-1</sup> in order not to exceed optimum nutrient values for white mustard and ryegrass crops. Ash application has also been recommended for use in phytostabilization projects as it can increase soil pH, and so reduce bioavailability of heavy metals such as Cd, Pb and Zn (Mortensen et al., 2018, Bidar et al., 2016, Lopareva-Pohu et al., 2011a). In contrast to these positive effects, the presence of heavy metals in ash can also have negative effects, especially associated with uptake by soil fauna and bioaccumulation in food chains (Mortensen et al., 2018). Assessment of the effect of biomass ash on soil organisms has received increasing interest because it is now recognised that these organisms provide key ecosystem services in agricultural systems and are indicators of soil quality (Hooper et al., 2005, Kibblewhite et al., 2008b, Pulleman et al., 2012). Recent work demonstrated that the effect of wood ash on microbial communities is often minimal but depending on the site, it can increase phylogenetic diversity of bacterial communities (Noyce et al., 2016). Furthermore, Qin et al. (2017) established that the lowest observed effect concentration (LOEC) of wood ash on survival and reproduction of Collembola (*Onychiurus yodai*) was 17.4 t ha<sup>-1</sup>.

A limited number of studies (McTavish et al., 2020a, McTavish et al., 2020b, Pukalchik et al., 2018, Singh et al., 2017) have evaluated the effect of biomass ash on earthworms. These studies showed that

wood ash has a negative effect on earthworm biomass (McTavish et al., 2020a; Singh et al., 2017). However, this effect decreased following the input of organic matter (as a food source) and varied according to the species studied, with the epigeic species *Eisenia fetida* less affected than the anecic species *Lumbricus terrestris* (McTavish et al., 2020a; Pukalchik et al., 2018; Singh et al., 2017).

The composition of biomass ash (including P, K and metal content) and corresponding effect varies widely depending on the plant type and the soil on which it was grown (Cruz et al., 2019, Nordin, 1994, Vassilev et al., 2013, Vassilev et al., 2014). Although studies have focussed on the composition of *Miscanthus* ash (Baxter et al., 2012; Lanzerstorfer, 2017; Michel et al., 2012), to our knowledge there have been no studies assessing the impact of *Miscanthus* ash on soil quality. Given ongoing developments in the commercial-scale growth of *Miscanthus* and associated increase in ash production, this topic should be considered timely and of real interest.

In this study, we have focused our attention on the effect of *Miscanthus* ash on earthworms because they represent the largest edaphic zoomass (Gobat et al., 2004), play an important role in soil function (Blouin et al., 2013) and are recognised as key bioindicators in ecotoxicology (Bart et al., 2018, Fründ et al., 2011, Spurgeon et al., 2003). Our work concentrated on *Aporrectodea caliginosa* as this geophagous soil-dwelling species often dominates earthworm communities of temperate agroecosystems (Sims and Gerard, 1999) and has been proposed as a model species in toxicity tests (Bart et al., 2018).

The aim of this study was to assess the effect of different concentrations of *Miscanthus* ash (from a crop grown on uncontaminated soil) on survival, change in biomass, reproduction and avoidance behaviour of *Aporrectodea caliginosa*, and utilise the results to contribute to an assessment of the potential for utilising the ash as a soil conditioner.

## 2. Materials and Methods

To assess the effects of *Miscanthus* ash on *A. caliginosa*, three different endpoints were assessed in laboratory experiments: i) survival and change in biomass, ii) reproduction, iii) avoidance. Earthworms were exposed to ash doses ranging from 0 to 50 t ha<sup>-1</sup> (0, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50 t ha<sup>-1</sup>). The doses were selected based on a range of identified biomass application rates. In the UK the annual limit for wood ash amendment to agricultural land is 1 t ha<sup>-1</sup> (HMSO, 2014). In Hungary, Füzési et al. (2015) recommended between 1 and 5 t ha<sup>-1</sup> for routine agronomic application of wood ash while 5 t ha<sup>-1</sup> is

the recommended maximum application dose in Nordic countries (Huotari et al., 2015) and a French case study (ADEME, 2001) recommended wood ash application from 2 to 15 t ha<sup>-1</sup> every three years depending on associated fertiliser applications and heavy metal content of the ash. In addition, ash doses of 25 and 50 t ha<sup>-1</sup> were selected to establish earthworm responses in soil at levels above current recommended thresholds.

## 2.1 Experimental design

Miscanthus ash was obtained from a crop grown on an unpolluted site: the Phytorestore Bioferme at La Brosse-Montceaux, France (GPS Coordinate 48° 21'8.08"N ; 3°1'24.98 E). The harvested Miscanthus was processed in a biomass plant (Power Corn, Guntamatic) in the RAGT Energie laboratory (Albi, France) and the bottom ash collected. Chemical properties of the ash were determined at the RAGT Energie laboratory (table 14). All experiments employed Kettering Loam (obtained from Boughton Loam Ltd) as a soil substrate (see table 14 for physical and chemical properties). The loam is widely used in earthworm research and recommended for culture of temperate soil dwelling species (Brami et al., 2017b, Lowe and Butt, 2005).

To calculate the weights of MA required to obtain the different ash doses, i.e. 0, 1, 2.5, 5, 10, 25 and 50 t ha<sup>-1</sup> (MA0, MA1, MA2.5, MA5, MA10, MA25 and MA50, respectively), the following equation was used:

$$D_l = \frac{V_l \times D_f}{V_f}$$

Where  $D_l$  is the amount of ash applied in the container in the laboratory (g),  $D_f$  is the amount of ash applied in the field (g),  $V_l$  is the volume of soil in the container in the laboratory (L) and  $V_f$  is the volume of soil in the field in an area of 1 ha and at a depth of 10 cm (L).

Dry components of the substrate (soil and Miscanthus ash) were homogeneously mixed and water added to obtain a moisture content of approximately 25% (Lowe and Butt, 2005). Substrate pH was assessed in each treatment according to NF ISO 10390 (2005) and 5 replicates of each treatment established.

Earthworms were collected from un-polluted pasture at two farms in Preston, UK (53.746°N, 2.682°W and 53.707°N, 2.676°W) and maintained in laboratory cultures as described by Lowe and Butt (2005) prior to experimental use.

For each experiment, earthworms were placed on the soil surface and when all individuals had burrowed into the substrate, the vessel was covered with a plastic lid, pierced with a mounted needle to allow gaseous exchange, and kept in 24h darkness in a temperature-controlled incubator (LMS Ltd).

## Chapitre 3.1

The survival and biomass experiment was conducted at 10 °C because this temperature is close to the mean annual field temperature in the UK. Reproduction and avoidance experiments were conducted at 15 °C which corresponds to the optimal temperature for *A. caliginosa* activity and cocoon production (Lowe and Butt, 2005). At each sampling point earthworm survival was recorded, individuals washed, carefully blotted dry with a paper towel and individually weighed.

**Table 14:** Physico-chemical characteristics of Miscanthus ash and Kettering Loam used in the experiments.

		Methodological standard	Miscanthus ash	Kettering Loam	Compost	Limit values in MTE of the standard NF U44-095
Clay	%		-	24	-	
Silt	%		-	18	-	
Sand	%		-	58	-	
pH	-	NF EN 12176 (1998)	11.8	6.8	4.5	
Organic matter	g kg <sup>-1</sup>	NF EN 12879 (2000)	42.0	67.2	161.4	
C <sub>org</sub>	g kg <sup>-1</sup>	ISO 10694 (1995)	21.0	-	138.1	
N <sub>tot</sub>	g kg <sup>-1</sup>	RAGT intern method	0.2	-	11.8	
Ratio C:N	-		105	-	11.7	
CaO	mg kg <sup>-1</sup>	NF EN ISO 11885(2009)	65600	-	59600	
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	mg kg <sup>-1</sup>	NF EN ISO 11885 (2009)	29700	-	19590	
K <sub>2</sub> O	mg kg <sup>-1</sup>	NF EN ISO 11885 (2009)	58900	-	5330	
Cd	mg kg <sup>-1</sup>	NF EN ISO 11885 (2009)	0.1	-	2.4	3
Cr	mg kg <sup>-1</sup>	NF EN ISO 11885 (2009)	3.59	-	89.6	120
Cu	mg kg <sup>-1</sup>	NF EN ISO 11885 (2009)	24	-	135.3	300
Ni	mg kg <sup>-1</sup>	NF EN ISO 11885 (2009)	1.9	-	55	60
Pb	mg kg <sup>-1</sup>	NF EN ISO 11885 (2009)	0.82	-	173.7	180
Zn	mg kg <sup>-1</sup>	NF EN ISO 11885 (2009)	73.9	-	542.1	600
Co	mg kg <sup>-1</sup>	NF EN ISO 11885 (2009)	0.52	-	-	
B	mg kg <sup>-1</sup>	NF EN ISO 11885 (2009)	32.9	-	-	
Fe	mg kg <sup>-1</sup>	NF EN ISO 11885 (2009)	1400	-	-	
Hg	mg kg <sup>-1</sup>	NF ISO 16772 (2004)	<0.03	-	0.63	2
Mn	mg kg <sup>-1</sup>	NF EN ISO 11885 (2009)	978	-	-	
Mo	mg kg <sup>-1</sup>	NF EN ISO 11885 (2009)	2	-	-	

n. a. – not analysed. MTE: metal trace elements

## *2.2 Survival and change in biomass*

Five *Miscanthus* ash treatments “MA” (MA0, MA1, MA2.5, MA5 and MA10) were established in plastic containers (11 x 11 x 6.2 cm). Sub-adult and adult (clitellate) earthworms with masses ranging from 100 to 1000 mg were used (mean weight:  $450 \pm 200$  mg). Two individuals were randomly selected, weighed and added to the surface of each replicate to ensure that there was no significant difference in the initial mean biomasses between treatments ( $p = 0.9618$ ). To mimic field conditions and to provide organic matter, compost obtained from the Phytorestore Bioferme (La Brosse-Montceaux, see table 14), was added at a rate of  $10 \text{ t ha}^{-1}$ . This dose is equivalent to field application rates and provides potassium and phosphorus without exceeding maximum annual input levels stated in the NF U 44-095 (2002) standard. Sieved horse manure (1% of dry mass) was incorporated in the substrate as an additional food source. Earthworm survival and individual biomass were recorded after 28, 56 and 84 days.

## *2.3 Reproduction*

Six MA treatments (MA0, MA1, MA2.5, MA5, MA10, MA25) were established, following an adapted version of ISO 11268-2 (2015) utilising the same vessel type as the survival / biomass experiment with the addition of dried and sieved horse manure (2.5%, which is equivalent to  $10 \text{ g adult}^{-1} \text{ month}^{-1}$  as recommended by Lowe and Butt (2005)). Adult (clitellate) earthworms (mean weight of  $900 \pm 300$  mg) were used with two individuals of similar mass added to the surface of each replicate. The experiment was sampled after 28 and 56 days, at which point cocoons were collected by wet-sieving the substrate following ISO 11268-2 (2015) and counted. At initial sampling (28 days), adult earthworms were placed into new substrate prepared as described previously.

## 2.4 Avoidance

A two-choice chamber avoidance test, based on ISO 17512-1 (2008), was performed to evaluate the behavioural (avoidance) response of *A. caliginosa* to 6 MA treatments (MA0, MA2.5, MA5, MA10, MA25, MA50). In this experiment, plastic containers with a volume of 2600 mL (18.5 x 14 x 11 cm) were used. In each vessel, one half of the container was filled with 700 g (to a depth of 9 cm) of treatment soil (spiked with MA) and the other half filled with the same volume of control soil (without ash). During construction, the two sections were separated with a central plastic divider which was removed prior to earthworm addition. Adult (clitellate) *A. caliginosa* (mean weight: 500 ± 200 mg) were used and five individuals weighed and placed on the soil surface in the middle of each container. After 48 h the divider was re-inserted and the number of individuals in each side of the container recorded. Avoidance rate *A* (%) was calculated according to the following equation:

$$A = \left( \frac{n_c - n_t}{N} \right) \times 100$$

Where  $n_c$  is the number of worms in the control soil,  $n_t$  is the number of worms in the test soil and  $N$  is the total number of worms per replicate. Individuals cut by introduction of the divider were attributed as 0.5 per section independent of the length of the two parts. Additionally, each earthworm was washed, carefully blotted dry with a paper towel and individually weighed.

## 2.5 Statistical Analysis

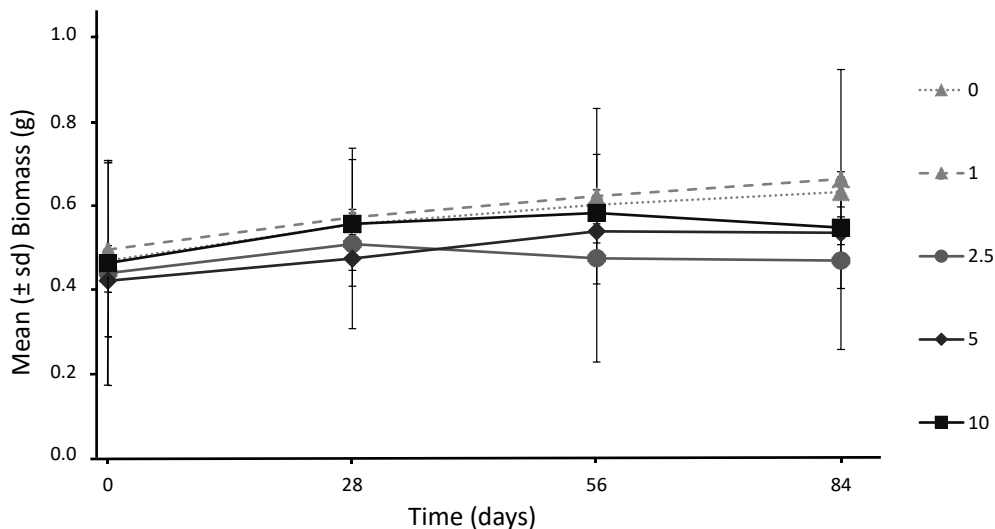
Data were analysed with XLSTAT (2014) software. To assess differences between treatments in all experiments, assumptions of normality (Shapiro-Wilk test) and homoscedasticity (Bartlett test) were determined. When validated, a one-way ANOVA followed by Dunnett's post-hoc test was performed. A Kruskal-Wallis test was used when normality and homoscedasticity conditions were not respected, followed by a Dunn test with a Bonferroni correction when differences were significant.

In addition, results of the two-choice chamber avoidance test were analysed with a paired *t*-test to compare means of proportions of individuals in control and treatment sections. When conditions of normality and homoscedasticity were not respected, the Wilcoxon test was used. Spearman's rank was used to evaluate the relationship between treatments and avoidance response.

## 3. Results

### 3.1 Survival and change in biomass

The effect of MA treatments on earthworm survival and biomass are presented in figure 18. At the end of the experiment, 100% survival was recorded in all treatments. There were no significant differences in mean biomass of earthworms between treatments at day 28 ( $p=0.9217$ ), 56 ( $p=0.8276$ ) and 84 ( $p=0.6313$ ). Although differences are not significant, individuals in MA0 and MA1 had the highest mean biomass ( $0.63 \pm 0.19$  g,  $0.66 \pm 0.25$  g respectively). Percentage changes in biomass between day 0 and day 84 were higher in MA0 and MA1, compared to other treatments (MA2.5, MA5 and MA10) with  $36 \pm 46$  %,  $35 \pm 24$  %,  $8 \pm 18$  %,  $27 \pm 16$  %,  $22 \pm 20$  % respectively but no significant differences between treatments were recorded ( $p = 0.468$ ). This trend of decreasing growth rates with increasing ash content over the three-month period may suggest that MA applications from  $2.5 \text{ t ha}^{-1}$  restrict earthworm development over a longer time period.



**Figure 18:** Mean ( $\pm$  sd) biomass of *A. caliginosa* in MA (Miscanthus ash) treatments (MA0, MA1, MA2.5, MA5, MA10  $\text{t ha}^{-1}$ ) after 0, 28, 56 and 84 days.

### 3.2 Reproduction

No significant differences ( $p > 0.05$ ) in cocoon production were recorded between treatments at each sampling point (Table 15). The lowest survival rate (90%) was recorded in MA25 and is explained by the death of one individual. After 56 days cocoon production was greatest in MA1 and MA2.5 and lowest in MA10 and MA25 treatments.

**Table 15:** *A. caliginosa* cocoon production and reproduction rate in the MA (Miscanthus ash) treatments (0, 1, 2.5, 5, 10, 25 t ha<sup>-1</sup>) after 56 days (mean  $\pm$  sd)

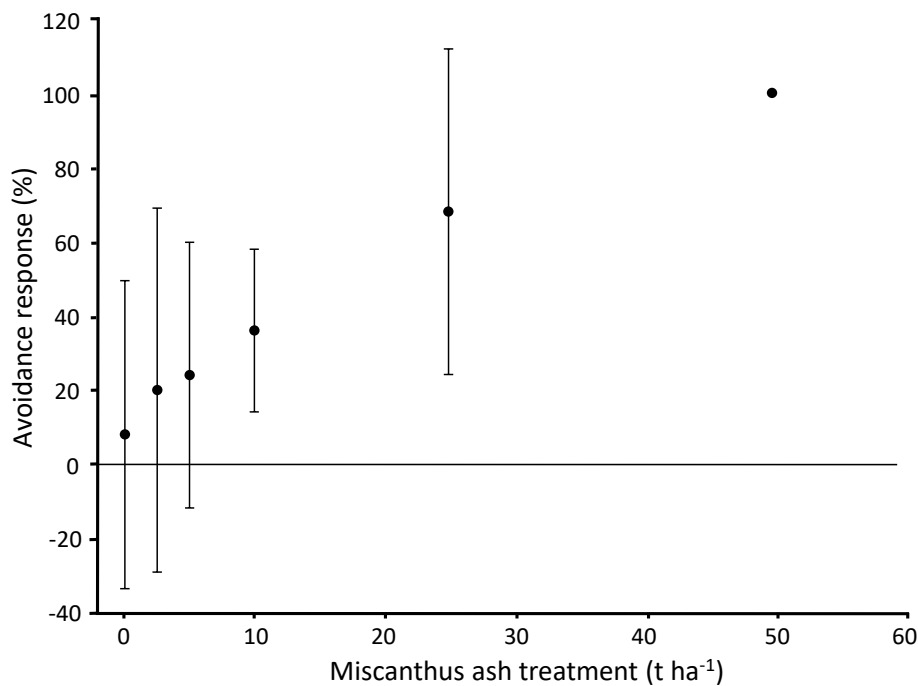
Treatment	Cocoon production (No replicate <sup>-1</sup> )	Reproduction rate (cocoon worm <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup> )
MA0	16.6 $\pm$ 9	0.15 $\pm$ 0.08
MA1	22.4 $\pm$ 9	0.20 $\pm$ 0.08
MA2.5	22.6 $\pm$ 3	0.20 $\pm$ 0.03
MA5	19.6 $\pm$ 7	0.18 $\pm$ 0.06
MA10	13.4 $\pm$ 7	0.12 $\pm$ 0.06
MA25	14.6 $\pm$ 6	0.13 $\pm$ 0.05



### 3.3 Avoidance

After 48h, the percentage of individuals found in the control section at MA0, MA2.5, MA5, MA10, MA25 and MA50 treatments was  $54 \pm 21 \%$ ,  $60 \pm 24 \%$ ,  $62 \pm 18 \%$ ,  $68 \pm 11 \%$ ,  $84 \pm 22 \%$  and  $100 \pm 0 \%$  respectively. The number of earthworms located in the control soil increased with increase in MA and significant differences in the number of earthworms located in control and treated sections was recorded for MA50 ( $p = 0.0369$ ) and was close to being significant in MA10 ( $p = 0.0533$ ) and MA25 ( $p = 0.0533$ ).

A positive correlation between increasing ash content and avoidance ( $p = 0.0001$ ,  $r_s = 0.66$ ) is shown in figure 19. However, a significant avoidance response was only recorded for MA50 ( $p = 0.0013$ ).



**Figure 19:** Mean avoidance rate ( $\pm$  sd) of *A. caliginosa* after 48h in MA (Miscanthus ash) treatments (0, 2.5, 5, 10, 25, 50 t ha<sup>-1</sup>).

## 4. Discussion

Only a few published studies have assessed the impact of ash on earthworms and these have tended to focus on ash from wood (McTavish et al., 2020a, McTavish et al., 2020b, Pukalchik et al., 2018, Singh et al., 2017) or coal (Demuynck et al., 2014, Grumiaux et al., 2010, Grumiaux et al., 2007, Muir et al., 2007, Yunusa et al., 2009). In addition, these studies have utilised different forms of ash e.g. fly ash (pulverised fuel ash) (McTavish et al., 2020a; McTavish et al., 2020b; Pukalchik et al., 2018) or do not indicate whether it is bottom ash or fly ash (Singh et al., 2017), while our work focuses on bottom ash that are recovered from the boiler ash pan (ESCo, 2014). As a result, it is important to recognise that the paucity of previous related research limits the scientific relevance of direct comparison with the current study but also highlights the novelty of the information provided.

### 4.1 Survival and change in biomass

In the survival and biomass change experiment, 100% survival in all treatments was recorded at the end of the experiment suggesting that, under the experimental conditions, *Miscanthus* ash does not have a lethal effect on *A. caliginosa* even at application rates up to 10 t ha<sup>-1</sup>.

Biomass increases remained relatively small in all treatments, including the control (from 36 ± 46 % to 22 ± 20% for MA0 and MA10 respectively) when compared to the results obtained by other authors for the same species (70% and 50% for Booth et al. (2000) and Owojori et al. (2009) respectively after one month). Different factors may explain these results, such as temperature (Eriksen-Hamel and Whalen, 2006), which was 20 °C in Booth et al. (2000) and Owojori et al. (2009), or quality and quantity of the food provided (Bart et al., 2019b), which was grass-meal in Booth et al. (2000) and oat-meal in Owojori et al (2009). In addition, Booth et al. (2000) used juvenile individuals whose relative growth rates are greater than when earthworms are reproductively active (Mathieu, 2018).

In our experiment, biomass tended to increase more rapidly in treatments with the lowest ash content (MA0 and MA1), suggesting a negative effect of ash on *A. caliginosa* development in treatments greater than 1 t ha<sup>-1</sup>. This negative effect was reported previously in the literature and was explained by the low palatability of ash with Singh et al. (2017) observing that biomass and cast production of *E. fetida* (epigeic species) were lower in soil spiked with wood ash compared to soil spiked with cow dung or rice husks. The negative effects could also be related to an increase in soil electrical conductivity as reported by Owojori et al (2009) and changes in soil texture due to ash application (Demeyer et al., 2001). *A. caliginosa* is a geophagous species and a change in soil texture may influence feeding

behaviour leading to a change in biomass (Baker et al., 1998; Lapied et al., 2009; Singh, 2018). In the current study these proposed negative effects did not have a significant impact on biomass and it is suggested that their influence may have been ameliorated/explained by i) earthworms utilising horse manure as a source of organic matter (food) balancing the low palatability of ash, and ii) the low amount of ash applied.

## 4.2 Reproduction

According to ISO 11268-2 (2015), three criteria must be met for the results of the reproduction test to be considered valid. The coefficient of variation in the control must be  $\leq 30\%$  (it was 11% in our study), survival rate in control must be  $\geq 90\%$  (it was 100%) and the number of juveniles hatched from cocoons produced by adults must be at least 30 per replicate. However, this final condition is not applicable in our study because cocoon production of *E. fetida* /*E. andrei* (species recommended for use in the ISO standard) is between 0.35 and 1.3 per day with an incubation time of 18 to 26 days (Dominguez, 2004, Venter and Reinecke, 1988) while it is between 0.1 and 0.4 cocoon per day for *A. caliginosa* with incubation periods of 62 to 84 days at 15 °C (Bart et al., 2019a, Lowe and Butt, 2005, Spurgeon et al., 2000). In our study, results showed that individuals produced from 0.12 to 0.20 cocoon ind<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> for treatments MA10 and MA1 respectively in accordance with results of previous authors (Bart et al., 2019a; Lowe and Butt, 2005; Spurgeon et al., 2000). Therefore, as the use of endogeic species such as *A. caliginosa* in ecotoxicology testing is increasing, it would be appropriate to update ISO 11268-2 (2015) to account for species-specific variations in reproductive output.

Miscanthus ash doses between 1 and 25 t ha<sup>-1</sup> had no significant effect on *A. caliginosa* cocoon production over the two-month experimental period and did not lead to a difference in cocoon production compared to the control treatment. Related studies have suggested that the effects of ash on earthworm reproduction rates may vary depending on the composition of ash used and the composition of metal trace elements in the ash. Khalil et al. (1996) highlighted the deleterious effect of Cd, Pb and Zn on cocoon production, and that combinations of these metals can have antagonistic effects on cocoon production. In addition, the potential increase in electrical conductivity of the soil following biomass ash input (Demeyer et al., 2001) could also have a deleterious effect on *A. caliginosa* cocoon production (Owojori et al., 2009).

Our results do not support the positive effect of wood ash (at application rates equivalent to 48 t ha<sup>-1</sup>) on (*E. fetida*) cocoon production after 60 days reported by Pukalchik et al. (2018). This may be

explained by i) differences in behaviour between epigeic and endogeic species, ii) the study by Pukalchik et al. (2018) was carried out in a multi-element contaminated soil and the beneficial effect of wood ash was attributed to its ability to immobilize trace metal elements, reducing stress on the earthworms.

In the current study, the application rates of ash from *Miscanthus* cultivated on a non-polluted site did not detrimentally impact soil conditions sufficient to influence *A. caliginosa* fecundity. It might be expected that similar results would be obtained from *Miscanthus* cultivated on polluted sites as pollutant transfer from soil to above ground biomass is relatively low (Nsanganwimana et al., 2014), but further investigation is necessary to confirm this assumption.

### 4.3 Avoidance

The avoidance test, originally developed by Yeardeley (1996), is known to yield a detectable response more quickly and at lower levels of contamination than traditional endpoints such as survival or reproduction (Hund-Rinke and Wiechering, 2001, van Gestel, 2012, Yeardeley et al., 1996). Our results showed, after 48 hours, a positive correlation between MA treatments and avoidance behaviour of *A. caliginosa*. Moreover, individuals tended to avoid the ash treatment in MA10 ( $p = 0.0533$ ) and the number of individuals found in control soil was greater than 80% in the MA25 treatment which indicates that this soil has a limited habitat function for micro-organisms, plants, soil organisms and their interactions (ISO 17512-1, 2008). This could be associated with an increase in soil pH from 7.8 in MA0, MA2.5, MA5, MA10 to 8.2 and 8.4 in MA25 and MA50 treatments respectively. Earthworms are highly sensitive to changes in pH (Muir et al., 2007) and Edwards and Lofty (1975) recorded that *A. caliginosa* has an optimal pH range between 5.0 and 6.0 with a decreasing abundance when pH was below or above these values. Therefore, the increase of 0.4 pH points in the MA25 treatment could be responsible for the avoidance response as Chan and Mead (2003) recorded that a pH increase of 0.5 in acidic soil doubled the abundance of *Aporrectodea trapezoides*. Other soil parameters that are modified by ash input may have also influenced the avoidance response such as electrical conductivity, which is positively correlated with the avoidance behaviour of *A. caliginosa* (Owojori and Reinecke, 2009) and increases with the addition of wood ash (Demeyer et al., 2001). Moreover, according to Riehl et al. (2010) the detrimental effect of ash on earthworms could be linked to an increase in soil water retention and a change in soil structure and texture. Indeed, Demuyne et al. (2014) recorded that changes in soil texture and increased MTE content associated with the application of 233 t ha<sup>-1</sup> of coal fly ash to contaminated soil resulted in *E. fetida* avoidance behaviour greater than 70%.

In contrast to the study by Demuynck et al. (2014) our work revealed 100% avoidance with an ash dose of 50 t ha<sup>-1</sup>. This could be explained by an increased sensitivity of the soil-dwelling geophagous *A. caliginosa* to changes induced by MA, such as osmotic stress (Qin et al., 2017), when compared with *E. fetida*, which lives on the soil surface and feeds predominantly on organic litter.

### 4.4 Synthesis and outlook

As a synthesis, we have demonstrated that ash from *Miscanthus* cultivated on non-polluted soil had no significant effect on survival, biomass and reproduction at the studied MA doses, even if some trends were observed (for biomass from 2.5 t ha<sup>-1</sup> and for reproduction from 10 t ha<sup>-1</sup>) but had an avoidance effect from 25 t ha<sup>-1</sup> leading to a loss of soil habitat function. However, it is notable that this rate of *Miscanthus* ash application is higher than recommended values for supplementing nutrients (phosphorous, potassium) in fertilizing cereal crops. For example, wheat crops which represents 15% of European agricultural land (Fertilizers Europe, 2018) has phosphorus and potassium requirements of 45 and 40 kg ha<sup>-1</sup> respectively for a yield target of 80 t ha<sup>-1</sup> in nutrient poor soil (COMIFER, 2009). With the MA used in our study, these nutrient levels would be met from an application rate of 3.5 t ha<sup>-1</sup>. Therefore, our results suggest that the amount of MA applied to fertilize crops is likely to be lower than the values eliciting limited habitat function (25 t ha<sup>-1</sup>). In addition, an input of 3.5 t ha<sup>-1</sup> of *Miscanthus* ash does not appear to be detrimental to earthworm survival and is lower than the 10 t ha<sup>-1</sup> dose from which there is a non-significant trend towards a decrease in cocoon numbers. However, care should be taken because, even if it was not significant, 3.5 t ha<sup>-1</sup> is higher than the 2.5 t ha<sup>-1</sup> dose at which there was a tendency for the growth of individuals to stall after three months.

Ash may also be used for purposes other than mineral fertilisation, such as increasing soil pH (Demeyer et al., 2001) or aided-phytostabilisation (Lopareva-Pohu et al., 2011a) when applied substantially larger amount of ash (up to 233 t ha<sup>-1</sup> (Lopareva-Pohu et al., 2011a)). The most common type of ash used in aided-phytostabilisation studies is coal ash (Demuynck et al., 2014, Lopareva-Pohu et al., 2011a, Lee et al., 2014, Leclercq-Dransart et al., 2018, Grumiaux et al., 2015, Grumiaux et al., 2010) but the predicted increase in the production of biomass ash and decrease in the use of coal in energy generation may result in its use in such projects. As a result, careful consideration should be given to the amounts of ash applied and the potential negative impact on earthworm communities, as these soil organisms can play a beneficial role in remediation process and in more general are recognised as ecosystem engineers as they influence ecosystem services, such as soil structure maintaining, water regulation, nutrient cycling and primary production (Blouin et al., 2013). Therefore, application of *Miscanthus* ash at levels triggering avoidance behaviour may have a significantly negative impact on these ecosystem services.

Our study provides novel data on the effect of *Miscanthus* ash on the soil dwelling earthworm *A. caliginosa*. In order to take into account the heterogeneity of field-application rates and determine the threshold value of ash, inducing a loss of soil habitat function it is suggested that a laboratory-based multi-chamber avoidance test (e.g. linear avoidance test developed by Lowe et al. (2016)) and associated field-based studies are implemented. Furthermore, the cumulative effect of repeated *Miscanthus* ash application (over extended time periods) should be investigated to ensure that there is not a deleterious effect on soil habitat function.

**Acknowledgements:** The authors would like to thank J. Kister, S. Quigg, P. Bentley and K. R. Butt for their participation in field sampling and technical assistance.

**Funding:** This work was supported by Phytoresource with a CIFRE grant (number 2017/0097) in partnership with INRAE/Agrocampus Ouest and the University of Central Lancashire, and an ANR 11-BTBR-0006 grant from the Biomass for the Future project.

### **Compliance with ethical standards**

**Conflict of interest :** The authors declare that they have no competing interests.

**Ethical approval :** All applicable international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals were followed.



## Chapitre 3.2

Effet des cendres de *Miscanthus × giganteus* sur le comportement d'évitement de l'espèce lombricienne endogée *Aporrectodea caliginosa*



Le chapitre 3.2 correspond à une communication courte qui sera soumise dans la revue *Internationale Ecotoxicology*.

### Résumé

Le chapitre précédent (3.1) n'a pas mis en évidence d'effet significatif de cendres de *Miscanthus* sur la survie, la biomasse et la reproduction d'*A. caliginosa*. Cependant, les résultats de l'étude précédente mettent en évidence la nécessité de vérifier que les apports de cendres de *Miscanthus*, à des doses réalistes agronomiquement, n'ont pas d'influence négative sur les communautés lombriciennes. Des tests plus représentatifs et réalistes écologiquement doivent donc être utilisés. Certains auteurs suggèrent que le comportement d'évitement des lombriciens est un paramètre plus sensible que la mortalité, la croissance ou la reproduction. Le test ISO 17512 recommande l'utilisation de deux dispositifs : la chambre à deux choix, utilisée dans le chapitre précédent (3.1) et la multichambre circulaire. Cependant, ces deux dispositifs sont peu représentatifs du terrain. De plus, la multichambre circulaire n'est pas facile à mettre en place et elle est peu utilisée dans la littérature. L'objectif de l'étude suivante (chapitre 3.2) est d'évaluer l'influence de la cendre de *Miscanthus × giganteus* sur le comportement d'évitement des lombriciens dans des conditions contrôlées en utilisant deux dispositifs à plusieurs chambres. Il s'agit du gradient linéaire développé par Lowe et al. (2016) ainsi que d'un nouveau dispositif circulaire en plastique (polyéthylène haute densité, PHD). Le comportement de l'espèce *A. caliginosa* a été enregistré grâce au marquage des individus avec un implant visible en élastomère (*visible implant elastomer*, VIE). Les dispositifs linéaires et la multichambre circulaire (diamètre : 30 cm, profondeur : 12.3 cm) ont été mis en place (5 réplicats) avec du sol Kettering Loam dans lequel cinq doses de cendres de *Miscanthus* ont été testées (0, 1, 2.5, 5 et 10 t ha<sup>-1</sup>). Après avoir identifié les individus avec un marquage VIE de différentes couleurs, cinq lombriciens ont été placés en surface de chaque traitement et les cloisons entre les traitements ont été retirées. Après 14 jours d'incubation à 15 °C, les cloisons ont été réinsérées et l'emplacement des individus a été enregistré. Dans les deux dispositifs, *A. caliginosa* a été récolté dans tous les traitements, ce qui suggère que les traitements de cendres allant jusqu'à 10 t ha<sup>-1</sup>, n'ont pas conduit à un comportement d'évitement. Les résultats des dispositifs linéaires et circulaires sont comparables et le dispositif circulaire en plastique (PHD) s'est avéré robuste, pratique et réutilisable. Le dispositif circulaire fournit également un continuum de concentrations des contaminants permettant de neutraliser l'effet potentiel des extrémités du dispositif linéaire. Cependant, il est essentiel d'effectuer d'autres études dans le but de confirmer l'efficacité de cette multichambre circulaire en utilisant d'autres contaminants à des périodes expérimentales différentes. De plus, des études complémentaires sur le terrain sont nécessaires afin de valider que la cendre de *Miscanthus* n'a pas d'effet délétère sur les communautés

## Chapitre 3.2

lombriciennes à des taux qui pourraient être appliqués aux champs, pour des objectifs d'amélioration de la qualité des sols tels que la fertilisation.

# Effect of *Miscanthus × giganteus* ash on avoidance behaviour of the endogeic earthworm *Aporrectodea caliginosa* in linear and circular multi-chamber vessels

## Authors

**Claire BRAMI<sup>1,2,3\*</sup>, Guénola PERES<sup>1</sup>, Safya MENASSERI<sup>1</sup>, Thierry JACQUET<sup>3</sup>, Christopher Nathan LOWE<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> : UMR SAS, Agrocampus Ouest, 65 rue de Saint Briec 35000 Rennes,

<sup>2</sup>: University of Central Lancashire, Preston, UK,

<sup>3</sup>: Phytorestore, 53 avenue Philippe Auguste,

\* corresponding author: c.brami@phytorestore.com

## Keywords

Avoidance behaviour, Ecotoxicology, *Aporrectodea caliginosa*, *Miscanthus × giganteus* ash, Circular avoidance test.

## Highlights

- *M. × giganteus* ash had no effect on *A. caliginosa* survival, biomass and avoidance behaviour in applications  $\leq 10 \text{ t ha}^{-1}$  over 14 days in both circular and linear vessels.
- *A. caliginosa* was able to traverse the entirety of both the circular and linear vessels during 14 days.
- The HDPE circular multi-chamber vessel is proposed as a more cost-effective and ecologically relevant alternative to the ISO 17512 design.

## Abstract

The increased use of energy crops, such as *Miscanthus × giganteus*, is leading to enhanced production of biomass ash, which is currently disposed of as a waste. Due to the nutrient composition and “liming” effect of the ash it may be used in soil fertilization/restoration practices. However, it is first necessary to ensure that the application of ash does not have adverse effects on the soil ecosystem. This study sought to assess the potential impact of *Miscanthus × giganteus* ash on earthworm avoidance behaviour under controlled conditions utilising an established linear gradient and novel HDPE circular avoidance multi-chamber vessels and VIE tagged *Aporrectodea caliginosa*. The linear gradient (length: 60 cm, depth: 13 cm) and circular chamber (diam: 30 cm, depth: 12.3 cm) designs were established with Kettering Loam soil spiked with 5 *Miscanthus* ash treatments (0, 1, 2.5, 5 and 10 t ha<sup>-1</sup>). Five earthworms (one per treatment), identified by tagging with VIE of different colours, were added to the soil surface of each replicate (n=5 per treatment) and the spacers between treatments removed. After 14 days incubated at 15 °C, spacers were re-inserted and earthworm location recorded. In both devices, *A. caliginosa* were retrieved from all treatments suggesting that ash application up to 10 t. ha<sup>-1</sup> did not elicit an avoidance response. The circular chamber provided comparable results with the linear gradient and the plastic (HDPE) construction was shown to be robust, practical and re-useable. The circular construction also provided a continuum of contaminant concentrations, negating the potential effect of “ends” on earthworm movement experienced in the linear gradient. Further studies are required to confirm the effectiveness of this adapted circular chamber utilising other contaminants and experimental time periods. Moreover, further field-based studies are needed to validate that *M. × giganteus* ash has no adverse effect on earthworm communities at realistic field-scale application rates for soil quality improvement objectives such as fertilization.

## 1. Introduction

Cultivation of the energy crop *Miscanthus × giganteus* in Europe is increasing leading to enhanced production of biomass ash (from combustion) currently classified as a solid waste product (European List of Wastes, European Commission, 2000), so the main outlet for the ash is landfill (Boulday and Marcovecchio, 2016). However, the disposal of biomass ash in landfills is costly and assigning by-product status to the ash would contribute to sustainable energy production goals (Silva et al., 2019). Most ashes are alkaline, with a pH ranging from 9 to 13 (Cruz et al., 2019, Qin et al., 2017, Tarelho et al., 2012), and have relatively high levels of key nutrients such as phosphorus and potassium (Cruz-Parades et al., 2017a, Demeyer et al., 2001) and it has been suggested that the ash could be used to restore degraded soil (Cruz et al., 2017) or as a fertiliser in agricultural systems (Cruz-Parades et al., 2017). However, assessment of the effect of biomass ash on soil organisms is necessary to ensure that it does not lead to a decrease in soil quality.

Earthworms are considered key organisms in ecotoxicology (Spurgeon et al, 2003) because of their role in soil function (Blouin et al, 2013 ; Lavelle et al, 2004), widespread distribution and abundance (Fründ et al, 2011). Only few studies have assessed the effect of biomass ash on earthworms and these have mainly focussed on wood ash (Pukalchik et al., 2018, Singh et al., 2017). To our knowledge, only the study in Chapter 3.1 and Bami et al. (submitted) have studied the effect of *Miscanthus* ash (MA) on earthworms, therefore more data are necessary.

The earthworm avoidance test, originally developed by Yearley (1996) can provide a more sensitive and rapid response at lower levels of contamination than traditional endpoints such as survival or reproduction (Yearley, 1996, Hund-Rinke and Wiechering, 2001, Van Gestel, 2012). According to ISO 17512-1 (2008), the test can be performed as either a simple two chamber design or a six-choice circular chamber design. In the two-section method earthworms are introduced on the soil surface at the division between two soil treatments (control and contaminated soil), the number of earthworms present in each treatment is recorded after 48 h and an avoidance response recorded if more than 80 % of individuals are located in the control soil. In the six-section circular method, earthworms are introduced in a central compartment connected to 6 triangular (pie-shaped) sections filled with test substrates of different contaminant concentrations; sections are separated by a fixed partition with 3 holes at the bottom of each partition in order to allow earthworm movement. However, this device has specific limitations. Firstly, the partitions may limit earthworm movement, especially for the recommended epigeic test species that are predominantly located on the soil surface. Moreover, this device is not commercially available and construction by researchers is constrained because of: (i) the high cost of materials (stainless steel to test contaminated soil with organic materials or high-density inert plastic to test contaminated soil with metals) and (ii) the complex design requires specific skills

in manufacture and assembly. These issues may explain why only a few authors have reported using the circular multi-chamber experimental vessel (e.g. Coleman et al, 2010; Denyes et al, 2014; Li and Alvarez 2011; Li et al., 2011; Mosneang et al., 2016).

In contrast the simple 2-chamber test has been widely adopted in ecotoxicological experiments (e.g. Garcia et al, 2008; Owojori and Reinecke, 2009; Lackmann et al., 2018; Wang et al., 2019; Miranda et al 2019). However, this single choice design does not reflect the heterogenous nature of many contaminated soils and therefore the ecological relevance is questioned. To address these issues Lowe et al (2016) developed a linear multi-chamber (n=5) vessel from a commercially available rectangular plastic trough with removable partitions and treatments in a linear gradient. This was considered more practical and ecologically relevant than the two chamber ISO 17512-1 avoidance test designs, however it has been suggested that the presence of “ends” may compromise “natural” earthworm movement. Therefore combining the practicality and cost effectiveness of the linear vessels with a circular multi-chamber design was considered a potentially significant methodological improvement on the standardised avoidance test.

The validity of many standard earthworm toxicity tests, including ISO 17512-1, has been widely questioned as they recommend the use of the epigeic species *Eisenia fetida* which does not normally inhabit the soil profile, exhibits enhanced tolerance to many pollutants and is rarely found in natural soils (Lowe et al, 2016, Lukkari and Haimi, 2005, Svendesen et al., 2005). Therefore, several authors have suggested the use of soil-dwelling species including the endogeic species *Aporrectodea caliginosa* (Bart et al., 2018, Klobucar et al., 2011) which often dominates earthworm communities in agroecosystems of temperate regions (Sims and Gerard, 1999) and has a widespread distribution.

Individual identification and the ability to track movement are significant methodological challenges in studying earthworm behaviour. Since the 1970s, authors have sought to develop methods to identify earthworms by tagging individuals with a range of materials such as food colorants,  $^{15}\text{NH}_4^+$  and  $\text{U-}^{13}\text{C}$  glucose, Rubidium or  $^{60}\text{Co}$  (Mazeaud, 1979, Dyckmans et al, 2005, Ben Hamou et al, 2007, Capowiez et al, 2001, Mathieu et al., 2018). However, these methods have limitations including a requirement to use specific equipment to detect tagging materials not visible to the naked eye (Mathieu et al, 2018). This issue was addressed by sub-cutaneous injection of a semi-permanent Visible Implant Elastomer (VIE) that does not affect growth, reproduction or fertility of individuals (Gonzales et al., 2006, Butt and Lowe, 2007, Butt et al., 2009). Use of this fluorescent (under UV light) VIE tag makes it possible to identify earthworms individually and provides more accurate information on location and movement capabilities and was successfully used by Lowe et al. (2016) in the linear gradient avoidance test.

Therefore, this study sought to assess the potential impact of *Miscanthus × giganteus* ash at 5 different concentrations (up to 10 t ha<sup>-1</sup>) on earthworm avoidance behaviour under controlled conditions in a novel HDPE circular and established linear gradient multi-chamber (n=5) avoidance vessels, using VIE tagged *Aporrectodea caliginosa*.

## 2. Materials and Methods

*A. caliginosa* were collected from un-polluted pasture at a farm in Preston, UK (53.707306°N, 2.676027°W). Adult (clitellate) *A. caliginosa* (300 to 1200 mg) were selected and prior to experimental use individuals were maintained in laboratory cultures as described by Lowe and Butt (2005).

*Miscanthus*, grown on an unpolluted site (Phytorestore Bioferme at La Brosse-Montceaux, France; 48°21'8.08' N; 3°1'24.98 E), was incinerated in a biomass plant (Power Corn, Guntamatic) located in the RAGT Energie laboratory (Albi, France). Chemical properties of the collected bottom ash are detailed in chapter 3.1, tablea 14, Kettering Loam (KL, 24 % clay, 18 % silt, 58 % sand, pH 6.8 and 6.72 % organic matter) recommended for culture of temperate soil-dwelling species (Brami et al., 2017; Lowe and Butt, 2005) was employed as the experimental soil.

Ash treatments equivalent to 0, 1, 2.5, 5 and 10 t ha<sup>-1</sup> MA (MA0, MA1, MA2.5, MA5, MA10) were prepared as described in chapter 3.1 and Brami et al. (2021). Ash concentrations were selected based on recommended doses for plant growth in routine agronomic application by Füzési et al. (2015) and Yunusa et al. (2009) (from 1 to 5 t ha<sup>-1</sup>) and that provide a supply of phosphorus and potassium approximate to the requirements of a wheat crop (45 and 40 kg ha<sup>-1</sup>, respectively (COMIFER, 2009)) used for the field trial described in chapter 3.3. For each treatment, KL was mixed with horse manure (0.4%) and the relevant MA dose. Water was added to the dry and homogeneously mixed substrate to obtain a moisture content of 25% (Lowe and Butt, 2005) and 1.3 kg of each treatment (1.2 L) was added to each compartment of the 2 vessel types.

The linear design (figure 20) was adapted from Lowe et al. (2016) and used rectangular opaque plastic containers (0.6 x 0.13 x 0.1 m). The five MA treatments were established in equal soil volumes (0.12 m x 0.13 m x 0.085 m) as a linear MA concentration gradient.

The circular multi-chamber vessel (figure 21) was made by Preston Industrial Plastics (Preston, UK) at a cost of £49 each. It consisted of a circular container (diam: 0.30 m, depth: 0.123 m, volume: 8.5 L)

## Chapitre 3.2

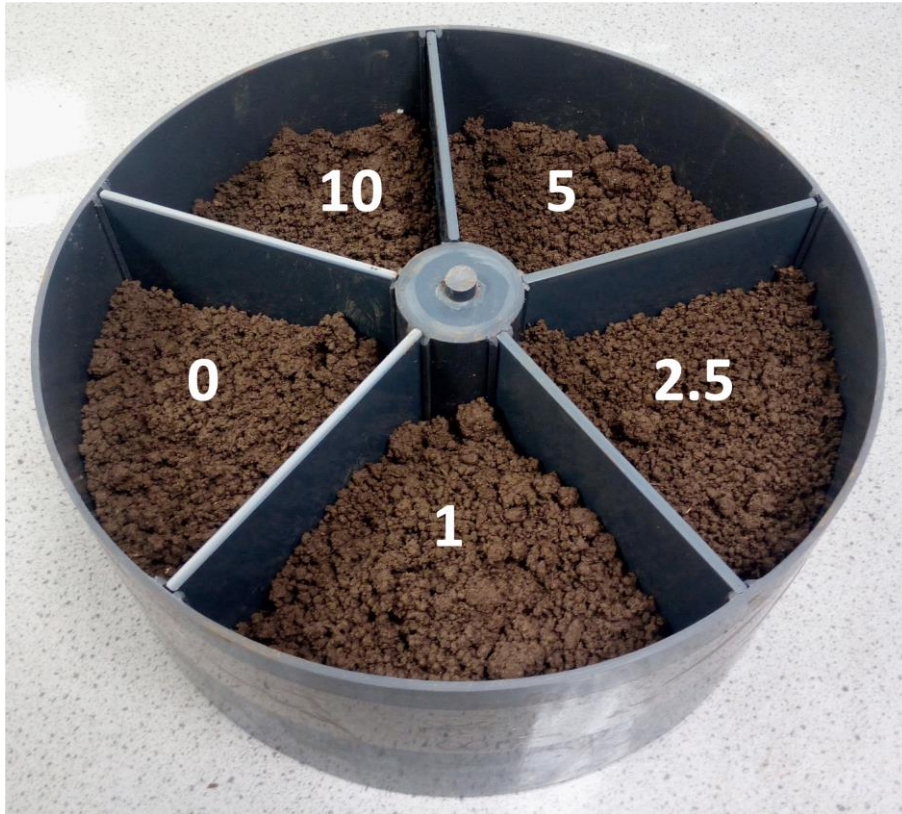
made from opaque plastic (high-density polyethylene, thickness: 0.003 m) divided by removable plastic partitions into five equal compartments of 1.7 L volume. A transparent perspex lid allowed the device to be covered in a non-hermetic manner, preventing individuals from escaping while allowing gaseous exchange. A volume of 1.2 l of substrate was placed in each chamber (depth of 8.5 cm)

Five replicates of both devices (linear and circular) were established. To identify (at sampling) the point of earthworm introduction, individuals were tagged (one week prior to use) with VIE (Northwest Marine Technology Inc., Washington, USA) of colours specific to each treatment. At the start of the experiment earthworms were individually weighed and one individual was placed on the soil surface in the centre of each treatment (chamber). The partitions were removed once all earthworms had burrowed into the substrate and then the linear vessels were covered with cling film pierced with a mounted needle to allow ventilation and the perspex lids placed on the circular vessels. Both vessel types were kept in a temperature-controlled incubator at 15 °C in 24h darkness for 14 days. At day 14, the partitions were re-inserted, the treatment substrates destructively sampled and earthworm location noted before individuals were gently washed with tap water to remove any soil, carefully blotted dry with a paper towel and mass recorded. Individuals severed on re-introduction of partitions were counted as 0.5 retrieved from each adjacent treatment. At day 0 and 14, soil moisture content and pH were measured (NF ISO 10390, 2005).



**Figure 20:** Linear gradient mesocosm (0.6 m x 0.13 m x 0.1 m) with nominal MA treatment ( $\text{t ha}^{-1}$ ) used in the avoidance test.





**Figure 21:** Circular gradient mesocosm (diam : 0.31 m, depth : 0.125 m) with nominal MA treatment ( $t \text{ ha}^{-1}$ ) used in the avoidance test.

Statistical analyses were performed with XLSTAT (2014) software. Changes in biomass, and retrieval point associated with point of inoculation after 14 days in both linear and circular devices were statistically analysed using one-way ANOVA followed by the Tukey post-hoc test when assumptions of normality (Shapiro-Wilk test) and homoscedasticity (Bartlett test) were verified. If normality and/or homoscedasticity were not respected a non-parametric Kruskal-Wallis test was performed followed by Dunn's test with a Bonferroni correction.

### 3. Results

Moisture and pH of the substrate in both devices are presented in table 16. In the linear device, at day 0, there was no significant difference in soil moisture between treatments ( $p = 0.8614$ ) ranging from 24 (MA1 and MA5) to 27% (MA2.5). After 14 days, there was a slight decrease in soil moisture (mean = -0.3%) and no significant differences were recorded between treatments ( $p = 0.9238$ ). In the circular device, significant differences in moisture content were recorded between treatments at day 0 ( $p <$

## Chapitre 3.2

0.05), with values ranging from 28 (MA1) to 31% (MA10). After 14 days, a decrease in soil moisture was registered in all treatments ranging from 6 (MA1, MA5) to 7% (MA0, MA2.5, MA10).

Mean soil pH of all treatments in the linear device was  $8 \pm 0.1$  on day 0 and the ash had no significant effect on pH ( $p = 0.1359$ ). After 14 days, mean pH increased by 0.2 units ( $8.2 \pm 0.1$ ) but no significant differences were recorded between treatments ( $p = 0.1274$ ). In the circular device, mean soil pH of treatments at day 0 was  $8.1 \pm 0.2$  and, in contrast to the linear device, there was a significant effect of ash on pH ( $p = 0.026$ ) with a gradient from the MA0 treatment, which had the lowest pH (7.8), to the MA10 treatment, which was 0.5 units higher. Conversely, after 14 days, no significant differences ( $p > 0.05$ ) in pH were recorded between treatments.

**Table 16:** Soil pH and moisture content ( $\pm$  standard deviation) of the 5 MA treatments (0, 1, 2.5, 5 and 10 t ha<sup>-1</sup>) at day 0 and 14.

	Day	MA0	MA1	MA2.5	MA5	MA10
<b>Linear device</b>						
pH	0	7.89 <sup>a</sup> $\pm$ 0.03	7.97 <sup>a</sup> $\pm$ 0.04	8.05 <sup>a</sup> $\pm$ 0.08	8.00 <sup>a</sup> $\pm$ 0.11	8.00 <sup>a</sup> $\pm$ 0.08
	14	8.28 <sup>a</sup> $\pm$ 0.08	8.23 <sup>a</sup> $\pm$ 0.03	8.27 <sup>a</sup> $\pm$ 0.09	8.21 <sup>a</sup> $\pm$ 0.05	8.29 <sup>a</sup> $\pm$ 0.05
Moisture (%)	0	24.6 <sup>a</sup> $\pm$ 0.7	24.0 <sup>a</sup> $\pm$ 11.0	26.7 <sup>a</sup> $\pm$ 4.1	24.4 <sup>a</sup> $\pm$ 0.5	24.9 <sup>a</sup> $\pm$ 0.1
	14	25.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.3	24.0 <sup>a</sup> $\pm$ 0.3	24.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.5	24.8 <sup>a</sup> $\pm$ 6.2	25.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.3
<b>Circular device</b>						
pH	0	7.79 <sup>a</sup> $\pm$ 0.11	8.11 <sup>b</sup> $\pm$ 0.05	8.11 <sup>b</sup> $\pm$ 0.01	8.27 <sup>b</sup> $\pm$ 0.01	8.33 <sup>c</sup> $\pm$ 0.07
	14	7.77 <sup>b</sup> $\pm$ 0.07	7.70 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	7.73 <sup>b</sup> $\pm$ 0.03	7.82 <sup>c</sup> $\pm$ 0.02	7.78 <sup>b</sup> $\pm$ 0.02
Moisture (%)	0	30.3 <sup>b</sup> $\pm$ 0.1	28.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.4	30.5 <sup>b</sup> $\pm$ 0.3	28.7 <sup>b</sup> $\pm$ 0.2	30.7 <sup>c</sup> $\pm$ 0.0
	14	23.3 <sup>b</sup> $\pm$ 0.0	22.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.0	23.3 <sup>b</sup> $\pm$ 0.0	22.8 <sup>c</sup> $\pm$ 0.0	23.7 <sup>d</sup> $\pm$ 0.0

After 14 days, earthworm survival rates were 100 and 96 % in the linear circular vessels respectively with one individual inoculated at MA0 found dead in MA2.5. Two individuals from each of 2 replicates in the circular gradient lost their tag and to maintain the robustness of the analysis, tag colour of these earthworms was determined based on comparing final and initial biomasses.

There was no observed pattern associated with change in earthworm biomass between day 0 and 14, some earthworms gained weight and some lost weight with an individual biomass variation of  $19.2 \pm 20.4\%$  and  $12.3 \pm 9.0\%$  in the linear and circular vessels respectively. Moreover, the inoculation point did not impact biomass in both devices ( $p > 0.05$ ).

After 14 days of exposure, in both linear and circular devices, individuals were retrieved from all MA treatments. In the linear device, retrieval ranged from 8%, in MA1, to 32%, in MA5 while in the circular device, it ranged from 12% in MA1 to 31% in the MA2.5. No significant avoidance response was recorded ( $p > 0.05$ , Table 17) with some individuals retrieved from higher MA substrate concentrations than their introduction point. For example, in the linear and circular devices, 80 and 60% respectively of earthworms inoculated in MA0 were recorded in treatments higher than or equal to MA2.5 (Table 17).

**Table 17:** *A. caliginosa* retrieval rates (%) and mean change in biomass (%  $\pm$  standard deviation) from MA treatments in linear and circular devices.

Introduction point		Earthworm retrieval rates (%)					Change in biomass (%)
Device		MA0	MA1	MA2.5	MA5	MA10	
Linear	MA0	20	0	20	40	20	-16.3 $\pm$ 26
	MA1	40	0	20	40	0	2.4 $\pm$ 5
	MA2.5	40	0	40	0	20	-8.9 $\pm$ 52
	MA5	0	20	40	20	20	1.9 $\pm$ 17
	MA10	20	20	0	60	0	-13.0 $\pm$ 7
	Mean		24 $\pm$ 17	8 $\pm$ 11	24 $\pm$ 17	32 $\pm$ 23	12 $\pm$ 11
Circular	MA0	25	0	75	0	0	-15.7 $\pm$ 20
	MA1	20	0	60	0	20	8.3 $\pm$ 5
	MA2.5	20	40	0	0	40	1.5 $\pm$ 18
	MA5	0	20	20	40	20	-4.5 $\pm$ 12
	MA10	40	0	0	40	20	-6.6 $\pm$ 14
	Mean		21 $\pm$ 14	12 $\pm$ 18	31 $\pm$ 35	16 $\pm$ 22	20 $\pm$ 14

## 4. Discussion

### 1. Ash avoidance

After 14 days, the proportions of individuals recorded in each compartment of the two vessel types were not affected by the different MA concentrations, and inoculation point had no impact on the final location of the earthworms. Therefore, under the specified experimental conditions, *A. caliginosa* did not present an avoidance behaviour in MA soil concentrations  $\leq 10 \text{ t ha}^{-1}$ .

Earthworm avoidance to other types of biomass ash has been previously demonstrated and while the results are not directly comparable there is value in highlighting differences in experimental approach. When ash has been shown to produce an avoidance response it is in studies utilising much higher amounts of ash. This was shown by Kobetičová et al. (2010), who studied the effect of incineration ash (fuel source unspecified) on *E. fetida* and recorded an avoidance  $EC_{50}$  in a two-choice chamber test of 13.7 %, equivalent to an application rate of  $164 \text{ t ha}^{-1}$ . The ash used in this study also had a very high metal content compared to MA with, for example, nearly 2000 times more lead, 270 times more copper and 36 times more zinc. In addition, Demuynck et al. (2014) recorded an avoidance response in *E. fetida* equal to or greater than 70%, 10 years after application of  $233 \text{ t ha}^{-1}$  of coal fly ash on a contaminated site.

While the results from the two-choice chamber test in chapter 3.1 (Brami et al, submitted) showed an almost significant avoidance response in the treatment  $10 \text{ t ha}^{-1}$  ( $p = 0.0533$ ), this was not the case in both linear and circular multi-chamber test of the current study. It is suggested that this potential difference in avoidance response maybe attributed to the increased experimental period (14 days compared with 48 hours). Addition of ash to substrate is known to result in an initial "flush" of alkalinity, nutrients and metals (Aronsson and Ekelund, 2004). Mc Tavish et al (2020) showed that this initial flush following the addition of  $10 \text{ t ha}^{-1}$  of wood ash could lead to a reduction in the abundance of earthworms in the hours or even weeks following addition, but that this effect fades over time and is no longer present after 1 year. This "flush" effect of ash may be seen in the pH changes experienced in the circular gradient where a rapid increase in soil pH in MA treatments was followed by a return to pH levels equivalent to the control after 14 days. The effect of ash on earthworms may therefore be time-dependent and a 14-day rather than 48-hour test may provide a more realistic picture of the effect of ash under field conditions.

Results are consistent with study of the chapter 4.1, utilising the two-choice avoidance test (17512-1, 2008) which suggested that MA concentrations of up to 10 t ha<sup>-1</sup> had no significant effect on avoidance behaviour but 100% avoidance was record at 50 t ha<sup>-1</sup>. By providing more complex devices (multi-choice chamber, and linear or circular shape) with a longer incubation time, our results clearly reinforced these previous results. However, further field-based studies, are needed to conclude about the effect of *Miscanthus* ash on earthworm communities, associated ecosystem services and more broadly on soil quality.

### 2. Performance and comparison of experimental design

The linear and circular experimental vessels provided consistent results for earthworm movement and biomass (Table 17). In both devices, tagging demonstrated that earthworms were able to traverse throughout the vessels over the 14 days experimental period, which is consistent (for the linear vessels) with the results of Lowe et al. (2016). Moreover, the plastic construction of both devices was shown to be robust, practical and re-useable.

The HDPE circular vessel confers benefits when compared to the multi-chamber system recommended by ISO 17512 (2008). The standard recommends leaving the earthworms in the multi-chamber device for 48 hours which may not allow individuals to explore the entire device, especially as the partitions are fixed with movement only facilitated by holes at the base of each fixed spacer. However, all five studies using the standard circular vessel employed one treatment concentration alternately with a control soil (e.g. Coleman et al., 2010, Mackenzie et al., 2014, Li and Alvarez, 2011, Li et al., 2011, Mosneang et al, 2016) so it was not a requirement for earthworms to be able to traverse the entire vessel within the 48-hour experimental period. In addition, as stated previously, a longer time period allows the soil to stabilise following contaminant input and leads to a more realistic observation of the effect of ash on individuals over time. However, depending on the substance to be tested, this 14-day period could be modified and additional studies are required to determine the optimal time frame. Moreover, the use of a range of concentration treatments tested simultaneously reduces time and workload and provides a more representative proxy for field conditions where contaminants are heterogeneously distributed in lateral and/or vertical gradients (Van der Perk, 2013, van Oort et al., 2008).

Considering the loss of soil moisture (up to 7%) in the circular device after 14 days, it is necessary to improve the vessel cover to negate the potential impact on earthworm stress (Curry, 2004) and behaviour. Placing small holes in the perspex lid and using parafilm to seal the lid to the vessel may minimise moisture loss while providing sufficient aeration.

The use of VIE tags to identify individuals and points of inoculation is very convenient but the loss of tags (often due to inexperience of the researcher in the injection process) is a recognised issue. This was addressed by assigning earthworms that had lost their tag with a colour based on comparing final with initial weights but individual weight variations of up to 12%, meant that it was difficult to do this with any certainty. However, in this study, potential errors in the attribution of missing tags did not influence the overall findings as earthworms were distributed throughout the treatments. To reduce risk of tag lost individuals should be tagged at least two weeks in advance of the experiment to ensure that the tag is stable and the tag should be injected in the muscle where it is less likely to be evacuated/lost.

This study shows that multi-chamber (circular and linear) devices, provide complementary and more relevant / ecologically representative information than the two-choice chamber. In the present study, the absence of avoidance behaviour was observed in both devices. Further studies with contaminants that yield a range of avoidance responses are needed to determine if the continuum of treatments (no ends) provided by the circular device gives more realistic or contrasting results than the linear device. The influence of test parameters should also be explored further, for example, under reduced experimental time periods the circular device may allow individuals to explore the range of treatments more rapidly than in the linear gradient.

## ***Acknowledgements***

The authors would like to thank A. R. Glover for assistance in setting up the circular device and J. Kister, S. Quigg, P. Bentley and K. R. Butt for participating in field sampling and technical assistance.

Funding: This work was supported by the Phyto restore company with a CIFRE grant (number 2017/0097) in partnership with INRA/Agrocampus Ouest and the University of Central Lancashire; and an ANR 11-BTBR-0006 grant from the Biomass For the Future project.







## Chapitre 3.3

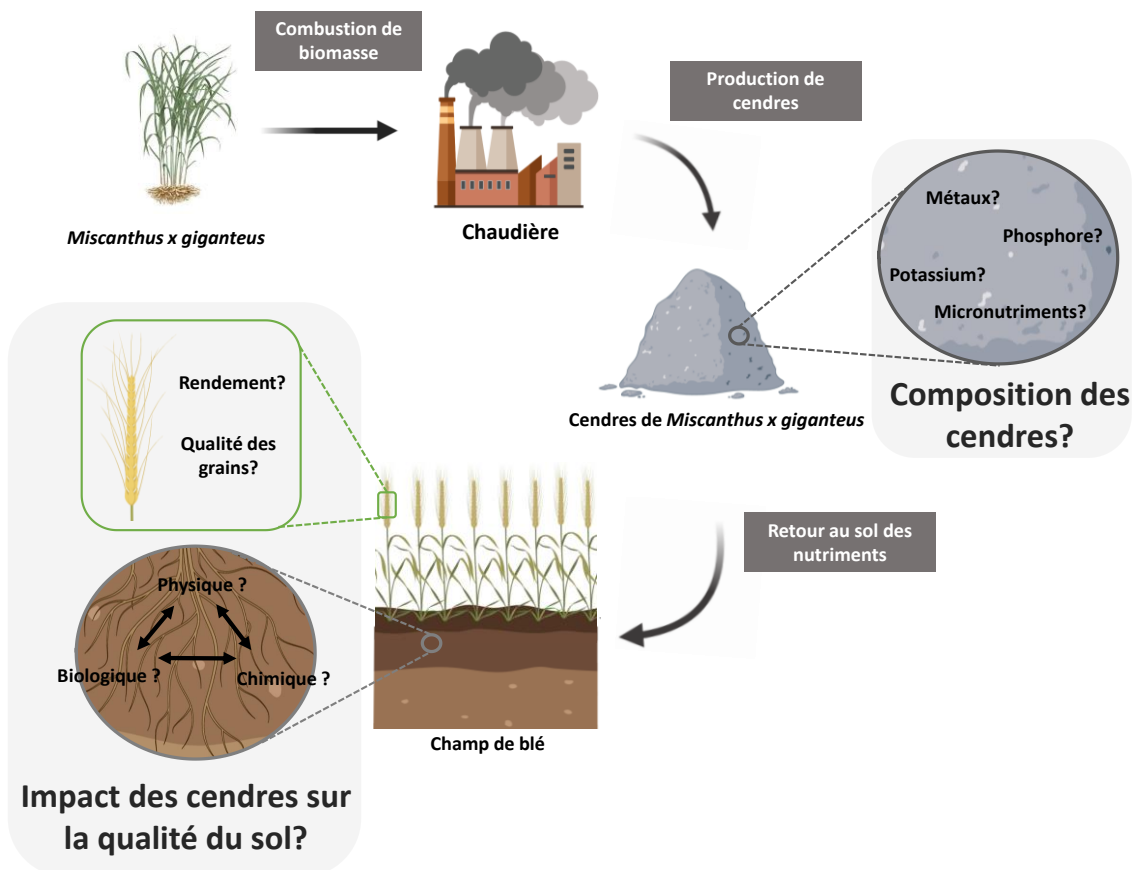
Évaluation multiparamètre de l'effet des cendres  
de *Miscanthus × giganteus* sur la qualité du sol  
d'un champ de blé

## Résumé

Le chapitre précédent (3.2) a permis de mettre en évidence que les cendres de *Miscanthus* n'ont pas d'effet négatif sur le comportement d'évitement de l'espèce endogée *A. caliginosa* à des doses allant jusqu'à 10 t ha<sup>-1</sup>. Ces résultats sont encourageants et permettent d'envisager une valorisation des cendres en agriculture. Cependant, il est nécessaire d'évaluer si l'absence d'effet sur l'espèce *A. caliginosa* se vérifie sur le terrain et si, d'une manière générale, la cendre de *Miscanthus* n'entraîne pas d'effet délétère sur la qualité du sol. L'étude présentée dans le chapitre suivant a pour objectif de tester les hypothèses suivantes : l'apport de cendres de *Miscanthus × giganteus*, appliquées à des doses réalistes dans un contexte de fertilisation ou en remplacement du chaulage, (1) n'a pas d'impact négatif sur la qualité du sol cultivé, (2) permet un apport de phosphore et de potassium et (3) entraîne une augmentation du pH conduisant à une amélioration de la qualité du sol dans certains contextes agronomiques (carence, sol acide...). Pour atteindre cet objectif, différents traitements correspondant à des doses croissantes de cendres de *Miscanthus* allant de 0 à 5 t ha<sup>-1</sup>, dont la composition a été analysée, ont été épandus avant les semis sur une culture de blé, au sein du site de la Bioferme. Les propriétés chimiques (pH, C<sub>org</sub>, N<sub>tot</sub>, C/N, éléments traces métalliques), biologiques (biomasse microbienne, communautés lombriciennes) et physiques (stabilité structurale, densité apparente) du sol ont été analysées suite à deux campagnes d'échantillonnage ayant eu lieu cinq et douze mois après les apports de cendres. Le blé a été récolté neuf mois après l'épandage des cendres et la quantité et la qualité des grains ont été évaluées. Les résultats ont mis en évidence l'absence d'effet délétère des cendres sur la qualité du sol. De plus, des augmentations de teneurs en phosphore et de pH ont été enregistrées après cinq mois. De la même manière, un accroissement de la concentration en potassium a été enregistré avec l'apport de cendres et cet effet était toujours visible douze mois après les apports de cendres. Alors que les résultats ont révélé une amélioration de la composante physique du sol, et notamment de la stabilité structurale, avec le traitement le plus élevé (5 t ha<sup>-1</sup>) jusqu'à douze mois après les apports, le traitement 1 t ha<sup>-1</sup> était celui qui présentait les meilleurs résultats concernant les composantes agronomique, de métaux totaux, de métaux échangeables ainsi que la composante biologique du sol, douze mois après l'apport de cendres. Ces résultats suggèrent que la dose de cendres à apporter dépend de la composante du sol que l'on souhaite améliorer, dans la mesure où elle n'a pas d'effet négatif suffisamment important sur les autres composantes du sol. Cependant, l'effet des cendres étant dépendant du milieu récepteur, d'autres études sont nécessaires afin de confirmer ces effets sur d'autres types de sols (texture et pH différents) et de vérifier l'innocuité des cendres suite à des apports répétés. Des études devraient aussi être menées sur les capacités fertilisantes des cendres sur des cultures en sols carencés en phosphore et potassium et/ou sur sol acide.

# 1. Introduction

Cette étude a pour objectif de tester si l'apport de cendres de *Miscanthus x giganteus*, appliquées à des doses réalistes dans un contexte de fertilisation ou en remplacement du chaulage, (1) n'a pas d'effet négatif sur la qualité d'un sol cultivé, qualité appréhendée par une approche multicritère, et (2) permet un apport de P et de K ainsi qu'une augmentation du pH, conduisant à une amélioration de la qualité du sol dans certains contextes agronomiques (carence, sol acide...). Pour atteindre cet objectif, différents traitements correspondant à des doses croissantes allant de 0 à 5 t ha<sup>-1</sup> de cendres de *Miscanthus x giganteus*, dont la composition a été analysée, ont été mis en place sous une culture de blé. Ces doses ont été choisies en lien avec les études de Füzesi et al. (2015) et Pitman, (2006) qui préconisent des apports de cendres de biomasse compris entre 1 et 5 t ha<sup>-1</sup> afin de permettre une légère alcalinisation d'un sol acide, ou des apports inférieures à 10 t ha<sup>-1</sup> afin d'éviter les risques de toxicité. Deux campagnes d'échantillonnage ont eu lieu au cours de la saison culturale et après la récolte, afin d'évaluer la qualité du sol, le rendement et la qualité du blé (figure 21).



**Figure 22 :** Schéma de l'évaluation de la valorisation agronomique des cendres issues de la filière thermique du *Miscanthus x giganteus*.

## 2. Matériel et Méthode

### 2.1 Origine et caractéristiques des cendres

Les cendres proviennent d'une culture de *Miscanthus × giganteus* cultivé, sur un sol non contaminé, au sein d'une exploitation agricole située à Montéléger dans la Drôme (France). Après combustion en chaudière biomasse (Hargassner, 45 kW), les cendres résiduelles ont été stockées à température ambiante dans un container à l'abri des intempéries. Leur composition est présentée dans le tableau 18.

**Tableau 18** : Concentration en principaux éléments dans la cendre de *Miscanthus × giganteus* épandue sur la parcelle Vieille Maison de la Bioferme.

Élément	Unité	Méthode d'analyse	Cendre <i>Miscanthus × giganteus</i>
pH (CaCl <sub>2</sub> )	-	NF EN 12176	11.77
C <sub>org</sub>	g kg <sup>-1</sup> ms	NF EN 12879	49.5
N <sub>tot</sub>	g kg <sup>-1</sup> ms	CEN/TS 15104	0.5
C/N	-	Calcul RAGT	99
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> total	g kg <sup>-1</sup> ms	NF EN ISO 11885	54.9
K <sub>2</sub> O total	g kg <sup>-1</sup> ms	NF EN ISO 11885	180.8
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> soluble	g kg <sup>-1</sup> ms	NF EN 15958	37.0
K <sub>2</sub> O soluble	g kg <sup>-1</sup> ms	NF EN 15477	203.0
Ca	g kg <sup>-1</sup> ms	NF EN ISO 11885	98.9
Mg	g kg <sup>-1</sup> ms	NF EN ISO 11885	8.8
Na	g kg <sup>-1</sup> ms	NF EN ISO 11885	1.4

**Tableau 19** : Concentration en éléments traces métalliques dans la cendre de *Miscanthus × giganteus* épandue sur la parcelle Vieille Maison de la Bioferme.

Élément	Unité	Méthode d'analyse	Cendre <i>Miscanthus × giganteus</i>	Norme engrais NF U 42-001 (2011)	Norme compost NF U 44-095 (2002)
Se	mg kg <sup>-1</sup> ms	ISO 11897	< 0.99		
Cd	mg kg <sup>-1</sup> ms	NF EN 14888	0.07		3
Cr	mg kg <sup>-1</sup> ms	EN 13650	3.70	120	120
Cd/P	mg kg <sup>-1</sup> P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Calcul RAGT	<0.01	90	
Hg	mg kg <sup>-1</sup> ms	ISO 11890	<0.03	2	2
Ni	mg kg <sup>-1</sup> ms	ISO 11894	5.10	120	60
Pb	mg kg <sup>-1</sup> ms	ISO 11895	0.75	150	180
Cu	mg kg <sup>-1</sup> ms	ISO 11888	46.97		300
Zn	mg kg <sup>-1</sup> ms	ISO 11898	110.10		600
Co	mg kg <sup>-1</sup> ms	ISO 11886	3.90		
Fe	mg kg <sup>-1</sup> ms	ISO 11889	1595.96		
Mn	mg kg <sup>-1</sup> ms	ISO 11891	1303.03		
Mo	mg kg <sup>-1</sup> ms	ISO 11892	6.8		
B	mg kg <sup>-1</sup> ms	ISO 11896	28.99		
As	mg kg <sup>-1</sup> ms	NF EN ISO 11885	0.57	60	

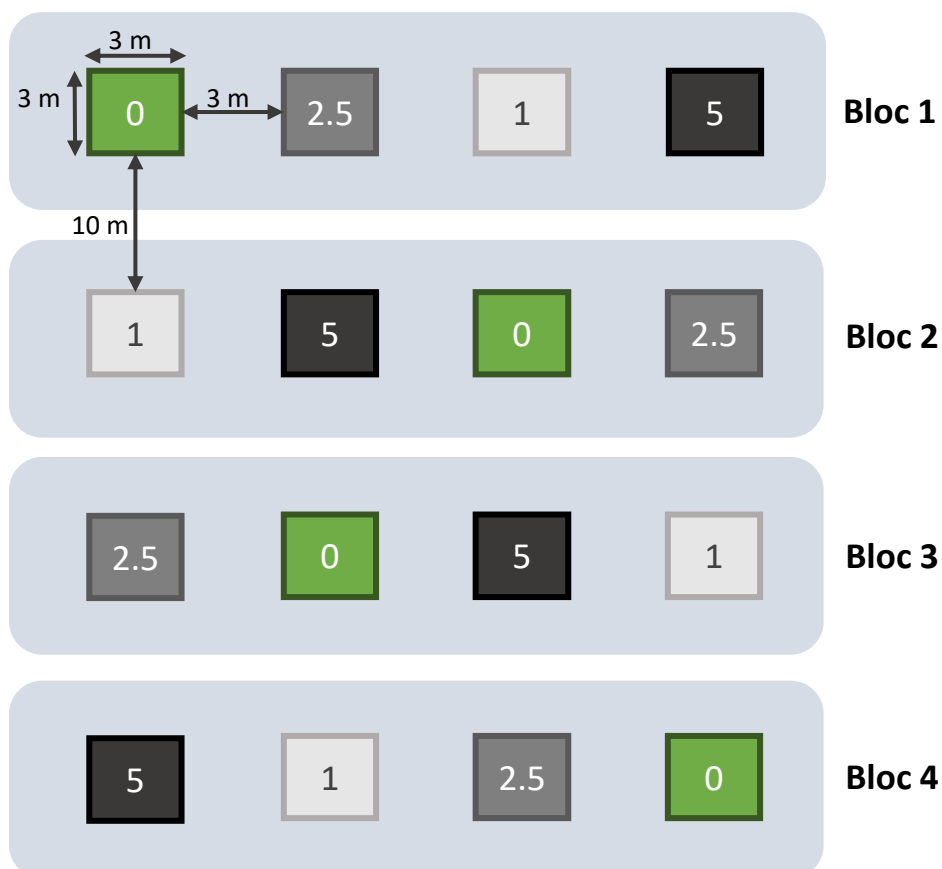
## 2.2 Site d'étude et dispositif expérimental

Cette étude a été conduite sur la parcelle en blé de l'exploitation « Bioferme » de l'entreprise Phyto restore, sur la commune de La Brosse-Montceaux (France). Le détail des caractéristiques du site sont données dans le chapitre 2.2.

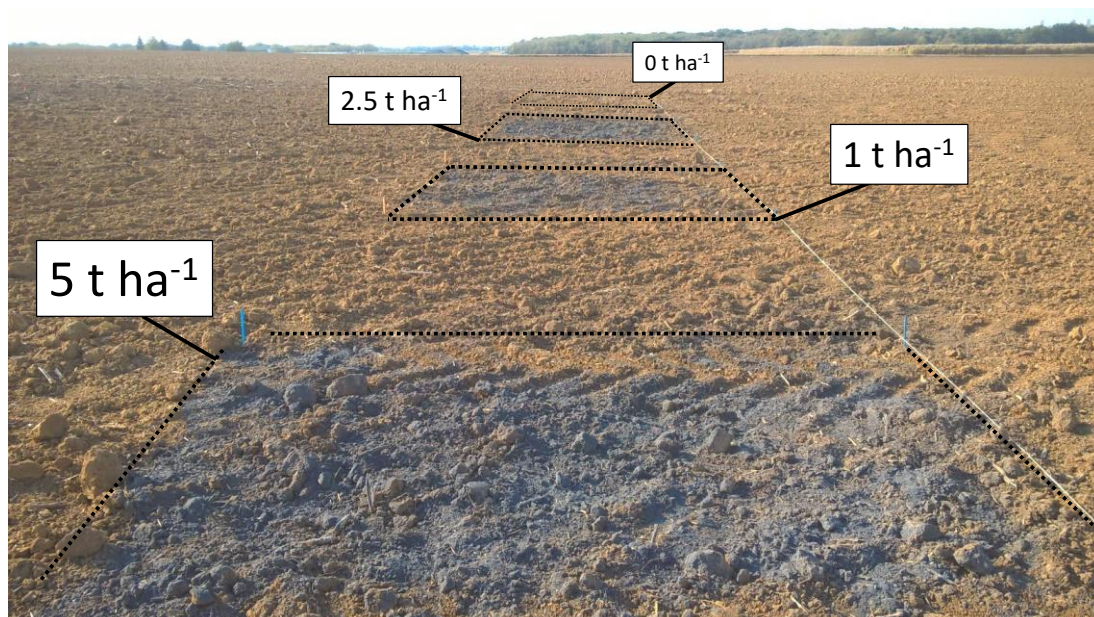
## 2.3 Dispositif expérimental

Les quatre traitements de cendres de *Miscanthus* testés étaient de 0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>. Le dispositif expérimental comprenait quatre blocs espacés les uns des autres de 10 m et constitués chacun de quatre placettes correspondant à chacun des 4 traitements, réparties aléatoirement, de 3 m x 3 m (figure 23) comme effectué par Reed et al. (2017). L'espacement entre placettes d'un même bloc était de 3 m. La culture antécédente était du colza avec un rendement de 37.5 t ha<sup>-1</sup>. Après désherbage chimique (Barclay Galup Super, 4 L ha<sup>-1</sup>) et déchaumage en août 2018, les quatre traitements (0, 1, 2.5

et  $5 \text{ t ha}^{-1}$ ) de cendres de *Miscanthus* ont été épandus en octobre 2018 (figure 25). La cendre a été épandue sèche et à la main, puis les traitements ont été humidifiés afin d'éviter les pertes de poussière, comme recommandé par Reed et al. (2017).



**Figure 23** : Descriptif du dispositif expérimental de la parcelle Vieille Maison. Un carré représente une placette de  $9 \text{ m}^2$ . Les différents traitements de cendres de *Miscanthus × giganteus* (0, 1, 2.5 et  $5 \text{ t ha}^{-1}$ ) sont indiqués dans les placettes.



**Figure 24** : Placettes du bloc 4 après épandage des traitements de cendres de *Miscanthus × giganteus* (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) et avant le semis du blé.

## 2.4 Itinéraire technique et application des cendres

La parcelle est conduite en travail du sol réduit. Des apports d'engrais de fond ont lieu tous les 3 ans sur cette parcelle (compost, 10 t ha<sup>-1</sup> 3 ans<sup>-1</sup>), le dernier épandage datant d'août 2018. Après l'épandage des traitements de cendres de *Miscanthus*, le blé (blé tendre d'hiver, variété Syllon) a été semé (300 grains m<sup>-2</sup>), puis les traitements ont été hersés mécaniquement dans les dix premiers centimètres du sol afin d'assurer un mélange uniforme. Afin d'éviter l'immobilisation de l'azote suite à l'apport de cendres (Gómez-Rey et al., 2012), trois apports d'azote ont eu lieu en février (Sulfan, 210 kg ha<sup>-1</sup>), mars (Ammonitrate 33,5%, 80 unités) et mai 2019 (Ammonitrate 33.5 %, 40 unités). Des désherbants (Chlortocide EL, 3.4 kg ha<sup>-1</sup>, Atlantis, 1 kg ha<sup>-1</sup>, Adenda 1 kg ha<sup>-1</sup>, Actimum 0.5 kg ha<sup>-1</sup>, Compil 0.25 kg ha<sup>-1</sup>) et insecticides (Mandarin Pro, 0.125 kg ha<sup>-1</sup>) ont été épandus en décembre 2018. Un régulateur de croissance (Cycocel C5, 2 kg ha<sup>-1</sup>) a été appliqué en mars 2019 et des fongicides (Cherokee, 1.3 kg ha<sup>-1</sup>, Epopée, 1.5 kg ha<sup>-1</sup>, Escapade, 0.2 kg ha<sup>-1</sup>) ont été appliqués en mai 2019. La récolte du blé de la parcelle Vieille Maison a eu lieu le 15 juillet 2019, le rendement total a été de 9.6 t ha<sup>-1</sup>. Les pailles ont été déchiquetées à la sortie de la moissonneuse, puis restituées sur le sol. La composition des spécialités commerciales est détaillée en annexe 7 (tableau 35).



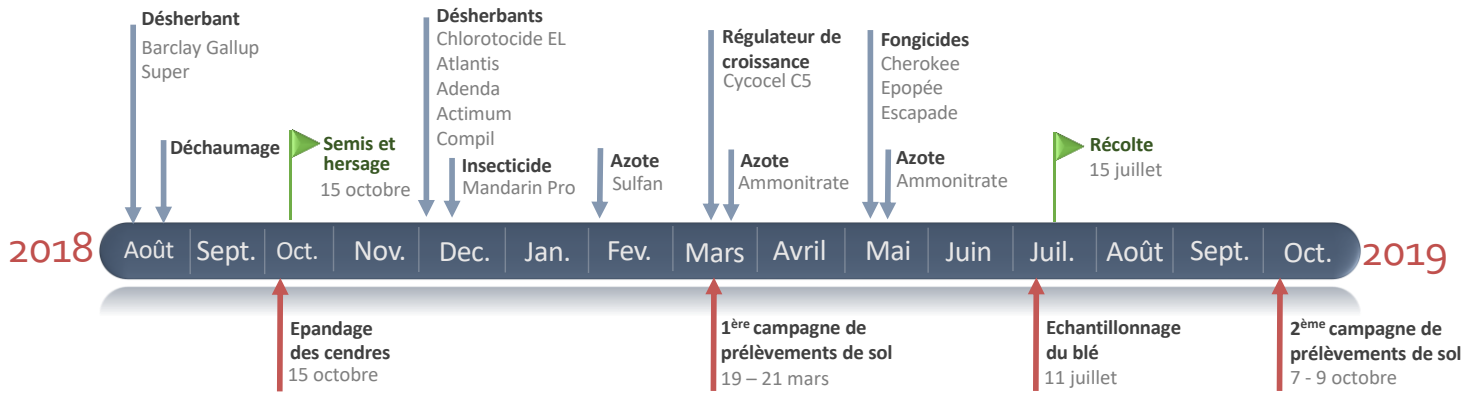


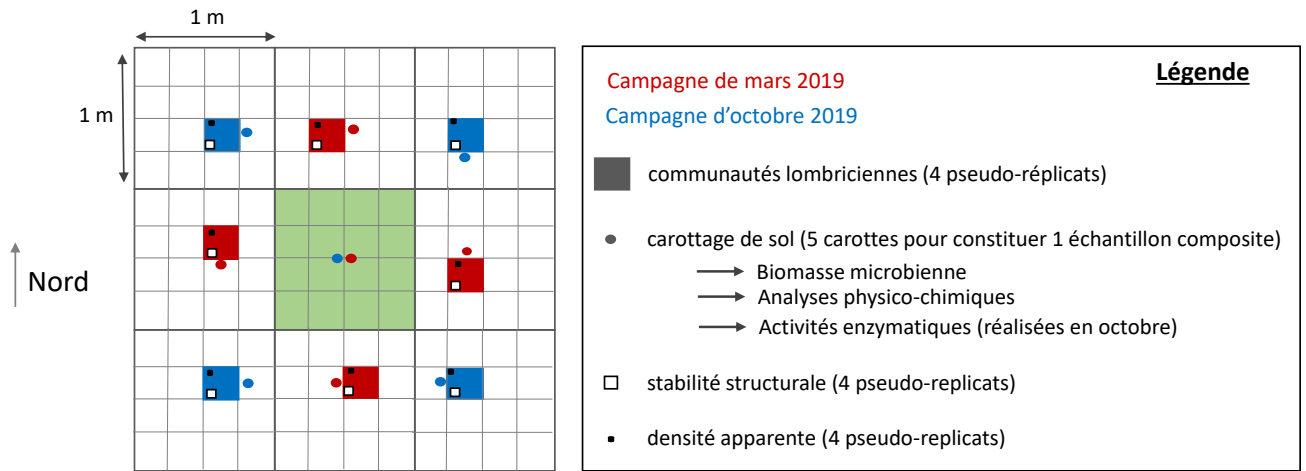
Figure 25 : Chronologie de l'itinéraire technique de la parcelle Vieille Maison d'août 2018 à octobre 2019.

## 2.5 Campagne d'échantillonnage

### 2.5.1 Echantillonnage de sol

Les campagnes d'échantillonnage de sol ont eu lieu 5 mois (Mars 2019) et 12 mois (Octobre 2019) après l'épandage des cendres. Lors de chaque campagne de terrain, les placettes ont été subdivisées en 9 quadrats de 1 m<sup>2</sup> comme décrit dans le chapitre 2.2. Quatre points d'échantillonnage ont été sélectionnés dans quatre des quadrats extérieurs et à au moins 50 cm du bord de la placette, pour éviter les effets de bordure, afin d'effectuer les opérations suivantes :

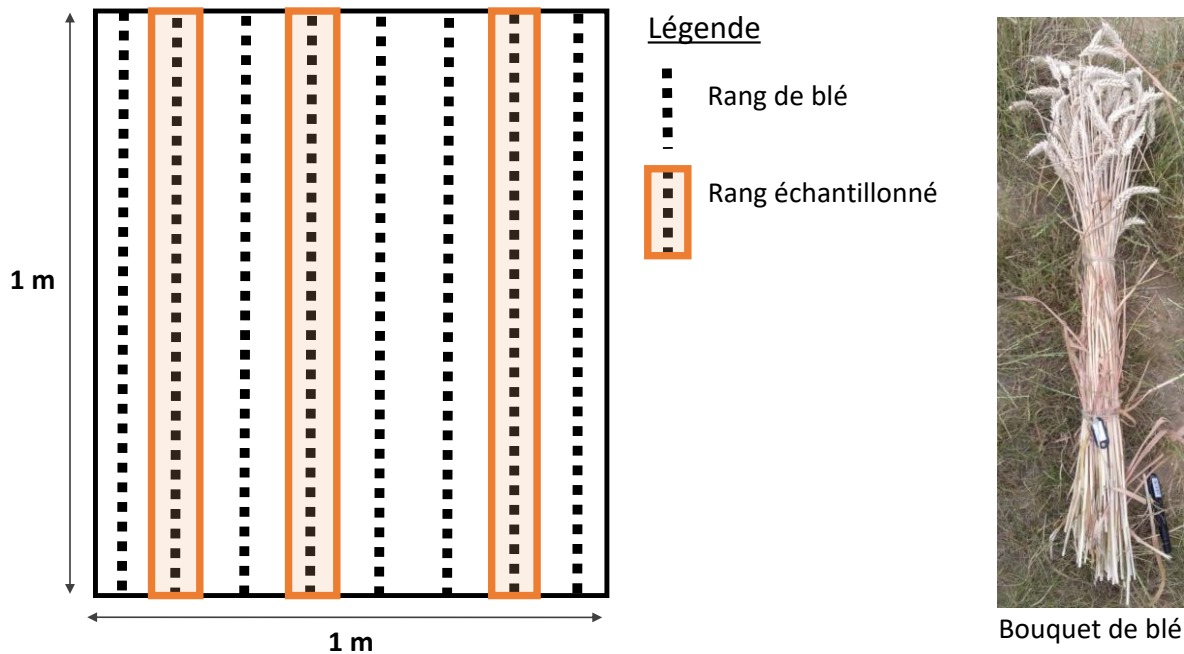
- (v) échantillonnage des communautés lombriciennes,
- (vi) échantillonnage de sol pour les mesures de la densité apparente,
- (vii) échantillonnage de sol pour l'analyse de la stabilité des agrégats,
- (viii) échantillonnage de sol pour aboutir à un échantillon composite afin de réaliser les mesures chimiques, d'activités enzymatiques et de biomasse microbienne, comme indiqué sur la figure 11 du chapitre 2.2.



**Figure 26 :** Placette de 9 m<sup>2</sup> dans laquelle les épandages de cendres de *Miscanthus × giganteus* ont eu lieu et localisation des points d'échantillonnages 5 mois (rouge) et 12 mois (bleu) après l'épandage. Le quadrat central (vert) représente la zone d'échantillonnage du blé en juillet.

### 2.5.2 Echantillonnage du blé

Les prélèvements de blé ont eu lieu sur une culture mature en juillet 2019, dans le quadrat central des placettes afin d'éviter un effet de bordure (figure 26). Trois rangs de blé de 1 m ont été sélectionnés aléatoirement au sein du quadrat (figure 27), puis les plants ont été comptés et le blé a été coupé manuellement à une hauteur de 10 cm au-dessus du sol de manière régulière afin de constituer 3 bouquets par placette. Les bouquets ont été mis à sécher à température ambiante pendant 2 mois.



**Figure 27 :** Quadrat central de la placette de 9 m<sup>2</sup> dans lequel 3 rangs de blé ont été échantillonnés aléatoirement en juillet 2019. Chaque rang a permis la constitution d'un bouquet de blé (photo).

## 2.6 Analyses

### 2.6.1 Qualité du sol

Toutes les analyses ont été réalisées à partir d'échantillons collectés au cours de deux campagnes de prélèvements : à la sortie de l'hiver en mars, et en octobre après la récolte du blé, à l'exception des activités enzymatiques qui n'ont été réalisées qu'en octobre.

#### 2.6.1.1 Analyses chimiques

Nous distinguerons les paramètres chimiques classiques, analysés pour caractériser la composante agronomique de la parcelle, des éléments traces métalliques (ETM). Les ETM ont été pris en compte dans cette étude afin d'évaluer un risque de contamination potentiel des placettes étudiées par les cendres de *Miscanthus*.

Pour chaque placette, un échantillon composite de sol issu de 5 carottes de sol (20 cm de profondeur) a été conservé à 4°C. 200 g de sol frais de chaque échantillon composite ont été expédiés au Laboratoire d'Analyse des Sols d'Arras (INRAE, Arras, France) pour réaliser les mesures des paramètres agronomiques et les mesures d'éléments traces métalliques (figure 11, chapitre 2.2).

#### *Composante agronomique*

- pH (NF ISO 10390, 2005),
- teneur en : carbone organique (Corg, g/kg, NF ISO 10694, 1995), azote total (Ntot, g/kg, NF ISO 13878, 1998), phosphore assimilable (P2O5, g/kg, méthode Olsen, NF ISO 11263, 1994), potassium (K<sub>2</sub>O, g/kg) échangeable après extraction à l'acétate d'ammonium (NF X 31-108, 1992, NF ISO 22036, 2009),
- capacité d'échange cationique (CEC, cmol+/kg, méthode Metson, NF X 31-130, 1999)

#### *Les éléments traces métalliques*

Les teneurs totales en éléments ont été déterminées par :

- *Spectroscopie d'Emission Atomique à Plasma à Couplage Inductif (ICP-AES)* après que les échantillons aient été digérés avec de l'acide fluorhydrique (HF, NF X 31-147, 1996) pour Cr, Cu, Ni, Zn, Co, K, P, Ca, Mn, Na (mg/kg) et Fe, Al, Mg (g/kg) (NF ISO 22036, 2009).
- *Spectroscopie de Masse Couplée à un Plasma Inductif (ICP-MS)* pour Pb, Cd, Ti et Mo (mg/kg, NF EN ISO 17294-2, 2005).

La teneur biodisponible en Cd, Cu, Ni, Pb, Zn et Cr (mg/kg) a été évaluée par ICP-AES après digestion par l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA, C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>).

Pour chaque élément, le facteur de mobilité a été calculé, adapté de Salbu et Krekling (1998), d'après l'équation présentée dans le chapitre 2.2.

### 2.6.1.2 Analyses biologiques

#### **Mesure des activités hydrolases**

Seuls les échantillons provenant de la campagne d'échantillonnage d'octobre 2019, soit 12 mois après l'épandage des cendres, ont été utilisés pour effectuer ces mesures. 500 g de sol issus des échantillons composites de chaque placette ont été transmis à la plateforme Biochem-Env (INRAE, Versailles, France). Les potentiels d'activités, exprimés en mU (équivalent nmole de produit libéré par minute) par gramme de sol sec, ont été mesurés d'après :

- la norme ISO 20130 pour la phosphatase, la  $\beta$ -glucosidase, l'uréase et l'arylamidase,
- la norme ISO 23753-1 pour la déshydrogénase.

Ces mesures ont été effectuées comme décrit dans le chapitre 2.2.

#### **Biomasse microbienne**

La biomasse microbienne du sol (mg kg<sup>-1</sup>) a été mesurée avec la méthode de fumigation-extraction (Vance et al., 1987) à partir de 50 g d'échantillon composite congelé. La biomasse microbienne a été estimée comme développé dans le chapitre 2.2.

#### **Communautés lombriciennes**

La méthodologie d'échantillonnage des vers de terre a été adaptée de la norme ISO 23611-1 (2006). La méthode se base sur une extraction couplant tri manuel d'un bloc de terre (25 x 25 x 25 cm) et application de moutarde dans la fosse décaissée, comme décrit dans le chapitre 2.2. L'ensemble des vers de terre collectés ont été conservés dans une solution formolée (4 %) avant d'être identifiés au laboratoire à l'aide de la clé de détermination de Bouché (1972), comme indiqué dans le chapitre 2.2.

Les communautés lombriciennes ont ensuite été décrites par les critères d'abondance (individus m<sup>-2</sup>), de biomasse (g m<sup>-2</sup>), de structure fonctionnelle basée sur les quatre catégories écologiques (épigés, épi-anéciques, anéciques stricts et endogés (Hoeffner et al., 2019, Bouché, 1977)) et de structure spécifique (indice de Shannon, richesse, équitabilité).

### 2.6.1.3 Analyses physiques

#### **Densité apparente**

Les échantillons de sol permettant la mesure de densité apparente ont été prélevés dans les 10 premiers cm du sol avec un cylindre de 251 cm<sup>3</sup> (4 points par placette) et la densité apparente a été mesurée selon la norme ISO 11272 (2017).

#### **Stabilité structurale**

Les échantillons de stabilité structurale ont été prélevés entre 0 et 10 cm de profondeur. La stabilité structurale a été mesurée selon la méthode de Le Bissonnais (1996) à partir de quatre pseudo-réplicats prélevés entre 0 et 10 cm de profondeur. La description des deux traitements (humectation rapide et réhumectation lente) ainsi que la méthode de détermination du MWD sont décrites dans le chapitre 2.2.

### 2.6.2 Rendement et qualité du blé

Pour chaque placette, trois bouquets séchés ont été analysés à l'INRAE du Rheu. Pour chaque bouquet : (i) les épis ont été dénombrés, (ii) la taille de 10 épis, sélectionnés au hasard dans le bouquet, a été mesurée, (iii) le nombre de grains par épi a été évalué et (iv) la teneur en protéines (%) a été évaluée via la méthode NIRS (MPA Bruker, logiciel : OPUS). Suite à un séchage à l'étuve (105°C) de 48h, le poids de 1000 grains (g) a été déterminé ainsi que le rendement en grains (t ha<sup>-1</sup>) de chaque bouquet.

L'indice de récolte (%) a été calculé pour chaque bouquet de blé, comme expliqué par Unkovich et al. (2010) :

$$\text{Indice de récolte (\%)} = \frac{\text{Rendement en grain}}{\text{Rendement biologique total}} \times 100$$

Avec le rendement biologique total qui correspond à la masse totale du bouquet.

## 2.7 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel R (R Core Team 3.6.1, 2019) afin d'évaluer l'effet des quatre traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) et de la période d'échantillonnage (mars, octobre)

sur les propriétés du sol au cours du temps. Un modèle linéaire mixte avec interaction a été développé. Les conditions de normalité et d'homoscédasticité des résidus ont été vérifiées ( $p$ -value  $> 0,05$ ) avec les tests de Shapiro et de Barlett respectivement. Lorsqu'elles n'étaient pas respectées, les données ont été transformées en logarithme. Une ANOVA (type 2,  $p$ -value  $< 0,05$ ) a été réalisée suivie de tests post-hoc (Package 'lsmeans', Lenth and Hervé, 2015) avec correction de Tukey ( $p$ -value  $< 0,05$ ). Lorsque les conditions n'étaient pas respectées, un test de Kruskal-Wallis a été réalisé. Les coefficients de corrélation de Pearson ont été calculés avec le package *corrplot*.

## 2.8 Synthèse et agrégation des données

Les propriétés du sol ont été agrégées afin de proposer un indice de qualité du sol en adaptant la méthode de Andrews et al (2004) et en s'inspirant aussi d'Obriot et al (2016) et de Viaud et al (2018).

Un jeu de données minimal de 33 paramètres a été sélectionné en se basant sur l'opinion d'un réseau d'experts, comme recommandé par Andrews et al (2002a), à partir de l'ensemble du jeu de données (56 variables), puis les paramètres du sol ont été classés dans cinq catégories (tableau 20) : (1) la composante biologique, (2) la composante agronomique, (3) les ETM totaux, (4) les ETM disponibles et (5) la composante physique. Des courbes réponses ont été attribuées à chaque paramètre (« more is better », « less is better » ou « optimum ») en se basant sur la littérature (Andrews et al., 2002a, Obriot et al., 2016, Viaud et al., 2018).

- La composante biologique prend en compte des indicateurs d'abondance de la microfaune (biomasse microbienne) et d'abondance et de diversité de la macrofaune (biomasse lombricienne, indice de Shannon lombricien et les abondances endogés, anéciques, épi-anéciques et épigés). La courbe réponse pour l'ensemble de ces propriétés est « more is better », sachant que plus un sol a une composante biologique développée, plus il est résistant et résilient aux perturbations (Obriot et al., 2016).
- Pour la composante agronomique, les propriétés du sol sélectionnées représentent la capacité du sol à fournir des nutriments pour la croissance des plantes (Obriot et al., 2016). Cette catégorie inclut le  $C_{org}$  et le  $N_{tot}$  mais aussi d'autres propriétés qui sont directement influencées par l'apport de cendres comme le pH, le phosphore Olsen ( $P_2O_5$  Olsen), le potassium échangeable ( $K_2O$  échangeable), le calcium total (Ca total) et le sodium total (Na total) (Demeyer et al., 2001).
- Les concentrations en ETM totaux prennent en compte l'ensemble des ETM du jeu de données. Ces propriétés ont été sélectionnées car l'apport de cendres peut conduire à une contamination du sol en ETM. En raison du risque de contamination et/ou pollution lié à la

### Chapitre 3.3

présence de ces polluants (Villanneau et al., 2008, Mathieu et al., 2008), la courbe réponse utilisée est « less is better ».

Les concentrations disponibles en cuivre (Cu disponible), plomb (Pb disponible) et zinc (Zn dispo) ont été sélectionnées car elles peuvent représenter un risque potentiel de contamination des plantes et de l'eau à court terme (Obriot et al., 2016) et l'augmentation du pH suite à l'apport de cendres permettrait de diminuer la disponibilité de ces métaux (Lopareva-Pohu et al., 2011a, Truog, 1947).

- Pour l'évaluation de la composante physique du sol, les diamètres pondérés moyens après réhumectation lente (MWD réhumectation lente) et humectation rapide (MWD humectation rapide) ont été sélectionnés car ils renseignent sur le risque d'érosion et de ruissellement (Le Bissonnais, 1996). Ils ont été précédemment utilisés par Obriot et al (2016) et Viaud et al (2018), tout comme la densité apparente.

Un score compris entre 0 et 1 a été attribué à chacune des variables afin qu'elles aient des valeurs comparables. En fonction de leurs courbes réponses, l'attribution des scores a été réalisée comme décrit dans le chapitre 2.2 (voir annexes 8 à 13). Cette démarche permet d'obtenir un score final entre 0 et 1 (résultat tableau 28) et de représenter les résultats sous forme de diagramme en radar (figure 34).

**Tableau 20** : Courbes de réponse des indicateurs des composantes biologique et agronomique et valeurs minimales et maximales de chaque indicateur cinq mois (mars) et douze mois (octobre) après l'épandage des traitements de cendres de Miscanthus.

Catégorie	Indicateur	Unité	Source	Courbe réponse	Optimum	Mars		Octobre	
						X <sub>min</sub>	X <sub>max</sub>	X <sub>min</sub>	X <sub>max</sub>
<b>Composante Biologique</b>									
	Biomasse microbienne	mg C kg <sup>-1</sup>	(Antoni et al., 2013)	More is better	-	284.1	392.5	293.8	389.8
	Shannon VDT	-	Opinion d'expert	More is better	-	1.6	2.0	1.7	2.1
	Biomasse lombricienne	g m <sup>-2</sup>	Opinion d'expert	More is better	-	107	184	74	212
	Abondance endogé	ind m <sup>-2</sup>	Opinion d'expert	More is better	-	236	500	208	448
	Abondance épigé	ind m <sup>-2</sup>	Opinion d'expert	More is better	-	0	20	0	4
	Abondance épi-anécique	ind m <sup>-2</sup>	Opinion d'expert	More is better	-	20	132	32	168
	Abondance anécique strict	ind m <sup>-2</sup>	Opinion d'expert	More is better	-	20	96	40	108
<b>Composante agronomique</b>									
	N <sub>tot</sub>	g kg <sup>-1</sup>	(Viaud et al., 2018)	Optimum	2	1.22	1.48	1.2	1.41
	C <sub>org</sub>	g kg <sup>-1</sup>	(Viaud et al., 2018)	More is better	-	11.9	15.2	11.4	13.9
	pH	-	(Viaud et al., 2018)	Optimum	6.8	7.91	8.4	7.86	8.49
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Olsen	g kg <sup>-1</sup>	(Denoroy et al., 2019)	Optimum	0.07	0.08	0.18	0.062	0.124
	K <sub>2</sub> O échangeable	g kg <sup>-1</sup>	(Denoroy et al., 2019)	Optimum	0.15	0.31	0.69	0.27	0.52
	Ca total	g kg <sup>-1</sup>	(Amezketta, 1999)	More is better	-	0.56	1.98	0.55	2.04
	Na total	g kg <sup>-1</sup>	Expert opinion	Less is better	-	0.41	0.45	0.43	0.47



**Tableau 21** : Courbes de réponse des indicateurs des ETM totaux et disponibles et de la composante physique et valeurs minimales et maximales de chaque indicateur cinq mois (mars) et douze mois (octobre) après l'épandage des traitements de cendres de Miscanthus.

Qualité du sol	Propriété du sol	Unité	Source	Courbe réponse	Valeur optimum	Valeurs mars		Valeurs octobre	
						X <sub>min</sub>	X <sub>max</sub>	X <sub>min</sub>	X <sub>max</sub>
<b>ETM totaux</b>									
	Cu	mg kg <sup>-1</sup>	(Chen et al., 2005)	Less is better	-	15.1	17.3	14.7	16.5
	Zn	mg kg <sup>-1</sup>	(Andrews et al., 2002a)	Less is better	-	73.5	84.3	73.4	81.4
	Mg	mg kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	0.34	0.38	0.35	0.41
	Cd	mg kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	0.31	0.35	0.32	0.34
	Mo	mg kg <sup>-1</sup>	(Chen et al., 2005)	Less is better	-	0.52	0.61	0.53	0.61
	Tl	mg kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	0.71	0.76	0.77	0.80
	Cr	mg kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	53.9	69.7	48.3	63.9
	Co	mg kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	10.2	10.9	10.9	11.4
	Ni	mg kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	26.0	28.8	27.7	29.0
	Al	g kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	43.3	46.6	46.6	49.4
	Fe	g kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	24.9	27.0	27.6	29.0
	Mn	mg kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	687	751	743	800
	Pb	mg kg <sup>-1</sup>	(Mathieu et al., 2008)	Less is better	-	22.9	24.6	24.4	26.8
<b>ETM disponibles</b>									
	Cu dispo	mg kg <sup>-1</sup>	(Chen et al., 2005)	Less is better	-	2.44	4.31	3.14	3.63
	Zn dispo	mg kg <sup>-1</sup>	(Chen et al., 2005)	Less is better	-	3.06	4.99	2.20	4.60
	Pb dispo	mg kg <sup>-1</sup>	(Chen et al., 2005)	Less is better	-	6.11	7.02	5.16	5.80
<b>Composante physique</b>									
	Densité apparente	g cm <sup>-3</sup>	(USDA, 2014)	Less is better	-	1.15	1.26	1.13	1.32
	MWD réhumectation lente	mm	(Le Bissonnais, 1996)	More is better	-	0.55	1.05	0.63	1.04
	MWD humectation rapide	mm	Le Bissonnais 1996	More is better	-	0.26	0.36	0.43	0.89

## 3. Résultats

### 3.1 Qualité du sol

#### 3.1.1 Propriétés chimiques du sol

Les traitements de cendres de *Miscanthus*, quelle que soit la dose appliquée et quelle que soit la période d'échantillonnage, n'influencent pas les teneurs en  $C_{org}$ , en  $N_{tot}$ , le rapport C/N, la CEC, le P total, le K total, le Mg, le Na, le  $CaCO_3$ , ni le Ca total (tableau 22).

A contrario, certaines propriétés du sol augmentent significativement suite à l'apport de cendres jusqu'à 5 mois après les apports, alors qu'aucune différence significative n'est enregistrée après 12 mois. C'est le cas du pH qui, 5 mois après l'épandage des cendres de *Miscanthus*, est supérieur ( $p = 0.0046$ ) de 0.2 point dans le traitement  $5 \text{ t ha}^{-1}$  ( $8.3 \pm 0.0$ ) par rapport au traitement contrôle ( $8.1 \pm 0.0$ ), mais cette différence n'est plus significative ( $p > 0.05$ ) 12 mois après l'épandage des cendres (tableau 22). De la même manière, 5 mois après l'épandage des cendres, les teneurs en  $P_2O_5$  disponible (tableau 22, extraction Olsen) sont significativement supérieures au contrôle dans les traitements 2.5 ( $p = 0.0018$ ) et  $5 \text{ t ha}^{-1}$  ( $p < 0.0001$ ) de 40% et 60% respectivement alors qu'aucune différence n'est enregistrée après 12 mois.

Concernant la teneur en  $K_2O$  disponible, c'est la seule propriété dont l'effet des traitements est enregistré jusqu'à 12 mois après l'épandage. En effet, 5 mois après l'épandage des cendres, la teneur en  $K_2O$  disponible (tableau 22) est significativement supérieure au contrôle dans les traitements 2.5 ( $p = 0.0094$ ) et  $5 \text{ t ha}^{-1}$  ( $p < 0.0001$ ) de 36% et 70% respectivement et 12 mois après l'épandage des cendres, les teneurs en  $K_2O$  disponible sont toujours significativement supérieures au contrôle ( $p = 0.0025$ ) de 40%.

On enregistre un effet de saisonnalité pour le  $P_2O_5$  et le  $K_2O$ . En effet, 12 mois après l'épandage des cendres, les teneurs en  $P_2O_5$  disponible diminuent de manière significative, par rapport aux teneurs mesurées 5 mois après l'épandage des cendres, pour les traitements 1 ( $p = 0.0375$ ), 2.5 ( $p = 0.001$ ) et  $5 \text{ t ha}^{-1}$  ( $p = 0.0001$ ). De manière similaire, les teneurs en  $K_2O$  diminuent significativement ( $p = 0.006$ ) de 25% dans le traitement  $5 \text{ t ha}^{-1}$ .

Par ailleurs, le pH ( $r = 0.73$ ,  $p = 0.0014$ ) et les teneurs en  $P_2O_5$  ( $r = 0.7292873$ ,  $p = 0.001347$ ) sont corrélés positivement aux traitements 5 mois après l'épandage des cendres. La teneur en  $K_2O$  disponible est corrélée 5 mois ( $r = 0.8637262$ ,  $p = 1.62e-05$ ) et 12 mois ( $r = 0.7698887$ ,  $p = 0.0004861$ ) après l'épandage des cendres.

### **Élément trace métallique**

**Concernant les éléments traces métalliques totaux** (tableau 23), aucune différence des teneurs totales en ETM des sols n'est enregistrée entre les différents traitements de cendres de Miscanthus (tableau 23). Cependant, une variabilité temporelle intra-traitement est observée pour certains éléments : ainsi, les concentrations en Fe ( $p < 2e-16$ ), Mn ( $p < 2e-16$ ), Tl ( $p < 2e-16$ ) et Pb ( $p < 2e-16$ ) sont supérieures dans l'ensemble des traitements 12 mois après le début de l'expérience par rapport aux valeurs obtenues en mars, 5 mois après le début de l'expérience, traduisant une augmentation de la teneur de ces éléments. A l'inverse, les concentrations en Cr sont supérieures en mars par comparaison aux résultats obtenus en octobre dans les traitements contrôle ( $p = 0.042$ ) et  $2.5 \text{ t ha}^{-1}$  ( $p = 0.0013$ ) de 14% et 6% respectivement, traduisant une diminution en Cr pour ces traitements.

**Concernant les éléments traces métalliques disponibles** (tableau 24), les cendres n'influencent pas les concentrations disponibles en cadmium, chrome, cuivre, nickel, plomb et zinc. Par ailleurs, la concentration disponible en plomb est inférieure dans le traitement  $1 \text{ t ha}^{-1}$  du mois d'octobre par rapport au mois de mars ( $p = 0.029$ ) de 19%.

Comme pour les concentrations disponibles, aucun facteur de mobilité n'est impacté par les traitements de cendres. Cependant, le facteur de mobilité du plomb de l'ensemble des traitements est supérieur en mars par comparaison aux résultats obtenus en octobre ( $p < 2e-16$ ). De plus, le facteur de mobilité du Zn dans les traitements contrôle et  $5 \text{ t ha}^{-1}$  est supérieur en mars par rapport aux teneurs obtenues en octobre ( $p = 0.0168$  et  $p = 0.0144$  respectivement) de 36% et 34%.

Chapitre 3.3

**Tableau 22** : Concentrations dans le sol 5 mois (Mars) et 12 mois (Octobre) après l'épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus × giganteus* sur la parcelle Vieille Maison. Les lettres en exposant indiquent les différences significatives pour un élément (par ligne) entre les traitements et les mois.

		Traitement (t ha <sup>-1</sup> )							
		0		1		2,5		5	
Éléments	unit	Mars	Octobre	Mars	Octobre	Mars	Octobre	Mars	Octobre
pH	-	8.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	8.2 ± 0.1 <sup>abc</sup>	8.1 ± 0.1 <sup>ab</sup>	8.1 ± 0.2 <sup>abc</sup>	8.2 ± 0.1 <sup>abc</sup>	8.3 ± 0.1 <sup>bc</sup>	8.3 ± 0.0 <sup>bc</sup>	8.4 ± 0.1 <sup>c</sup>
Matière organique	g/kg	22.8 ± 2.3 <sup>a</sup>	20.9 ± 0.6 <sup>a</sup>	23.1 ± 1.1 <sup>a</sup>	21.2 ± 1.2 <sup>a</sup>	22.9 ± 2.2 <sup>a</sup>	21.1 ± 2.0 <sup>a</sup>	22.7 ± 0.9 <sup>a</sup>	21.3 ± 0.9 <sup>a</sup>
C <sub>org</sub>	g/kg	13.2 ± 1.3 <sup>a</sup>	12.1 ± 0.4 <sup>a</sup>	13.4 ± 0.6 <sup>a</sup>	12.3 ± 0.7 <sup>a</sup>	13.3 ± 1.3 <sup>a</sup>	12.2 ± 1.2 <sup>a</sup>	13.1 ± 0.5 <sup>a</sup>	12.3 ± 0.5 <sup>a</sup>
N <sub>tot</sub>	g/kg	1.3 ± 0.1 <sup>ab</sup>	1.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.4 ± 0.0 <sup>b</sup>	1.3 ± 0.1 <sup>ab</sup>	1.3 ± 0.1 <sup>ab</sup>	1.3 ± 0.1 <sup>ab</sup>	1.3 ± 0.0 <sup>ab</sup>	1.3 ± 0.1 <sup>ab</sup>
C/N	-	10.0 ± 0.3 <sup>a</sup>	9.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	9.9 ± 0.3 <sup>a</sup>	9.7 ± 0.2 <sup>a</sup>	9.9 ± 0.2 <sup>a</sup>	9.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	9.8 ± 0.1 <sup>a</sup>	9.7 ± 0.2 <sup>a</sup>
CEC	cmol+/kg	13.1 ± 0.3 <sup>a</sup>	13.1 ± 0.4 <sup>a</sup>	13.3 ± 0.4 <sup>a</sup>	13.5 ± 0.3 <sup>a</sup>	13.4 ± 0.2 <sup>a</sup>	13.4 ± 0.2 <sup>a</sup>	13.3 ± 0.1 <sup>a</sup>	13.3 ± 0.2 <sup>a</sup>
P total	g/kg	0.92 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.94 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.92 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.92 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.94 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.94 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.97 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.96 ± 0.1 <sup>a</sup>
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> disponible (Olsen)	g/kg	0.09 ± 0.0 <sup>ab</sup>	0.08 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.10 ± 0.0 <sup>bc</sup>	0.08 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.13 ± 0.0 <sup>cd</sup>	0.09 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.15 ± 0.0 <sup>d</sup>	0.10 ± 0.0 <sup>a</sup>
K total	g/ kg	16.9 ± 0.3 <sup>a</sup>	17.5 ± 0.1 <sup>ab</sup>	16.9 ± 0.3 <sup>a</sup>	17.3 ± 0.3 <sup>ab</sup>	17.2 ± 0.1 <sup>ab</sup>	17.4 ± 0.2 <sup>ab</sup>	17.3 ± 0.4 <sup>ab</sup>	17.8 ± 0.5 <sup>b</sup>
K <sub>2</sub> O disponible	g/kg	0.33 ± 0.0 <sup>ab</sup>	0.30 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.39 ± 0.0 <sup>bc</sup>	0.33 ± 0.0 <sup>ab</sup>	0.45 ± 0.0 <sup>c</sup>	0.36 ± 0.0 <sup>abc</sup>	0.56 ± 0.1 <sup>d</sup>	0.42 ± 0.1 <sup>bc</sup>
Mg	g/ kg	3.6 ± 0.1 <sup>a</sup>	3.8 ± 0.2 <sup>ab</sup>	3.6 ± 0.2 <sup>a</sup>	3.8 ± 0.2 <sup>ab</sup>	3.6 ± 0.1 <sup>a</sup>	3.8 ± 0.1 <sup>ab</sup>	3.6 ± 0.1 <sup>ab</sup>	3.9 ± 0.2 <sup>b</sup>
Na	g/ kg	43.4 ± 0.1 <sup>a</sup>	45.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	42.8 ± 0.0 <sup>a</sup>	44.4 ± 0.0 <sup>a</sup>	43.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	44.3 ± 0.1 <sup>a</sup>	43.0 ± 0.1 <sup>a</sup>	45.1 ± 0.2 <sup>a</sup>
CaCO <sub>3</sub>	g/kg	13.3 ± 14.0 <sup>a</sup>	11.7 ± 15.1 <sup>a</sup>	12.5 ± 13.0 <sup>a</sup>	10.7 ± 10.3 <sup>a</sup>	12.8 ± 15.2 <sup>a</sup>	10.5 ± 13.9 <sup>a</sup>	15.8 ± 11.1 <sup>a</sup>	11.5 ± 7.9 <sup>a</sup>
Ca total	g/kg	10.5 ± 5.8 <sup>a</sup>	11.2 ± 6.5 <sup>a</sup>	10.1 ± 5.6 <sup>a</sup>	10.7 ± 5.3 <sup>a</sup>	10.5 ± 6.3 <sup>a</sup>	10.5 ± 6.0 <sup>a</sup>	11.6 ± 4.5 <sup>a</sup>	11.3 ± 3.7 <sup>a</sup>

**Tableau 23** : Concentrations moyennes (avec écarts-types) en éléments traces métalliques totaux du sol 5 mois (Mars) et 12 mois (Octobre) après l'épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus × giganteus* sur la parcelle Vieille Maison. Les lettres en exposant indiquent les différences significatives pour un élément (par ligne) entre les traitements et les mois.

		Traitement (t ha <sup>-1</sup> )							
		0		1		2,5		5	
		Mars	Octobre	Mars	Octobre	Mars	Octobre	Mars	Octobre
<b>ETM totaux</b>	unité								
Cd	mg/kg	0.3 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.0 <sup>a</sup>
Cr	mg/kg	64.6 ± 2.5 <sup>a</sup>	55.6 ± 4.3 <sup>bc</sup>	66.3 ± 1.8 <sup>a</sup>	60.7 ± 2.0 <sup>abc</sup>	67.1 ± 4.0 <sup>a</sup>	54.1 ± 6.7 <sup>c</sup>	62.8 ± 6.1 <sup>ab</sup>	58.9 ± 5.9 <sup>abc</sup>
Cu	mg/kg	15.8 ± 0.7 <sup>a</sup>	15.5 ± 0.3 <sup>a</sup>	15.6 ± 0.5 <sup>a</sup>	15.5 ± 0.6 <sup>a</sup>	15.9 ± 1.0 <sup>a</sup>	15.9 ± 0.6 <sup>a</sup>	15.8 ± 0.5 <sup>a</sup>	15.5 ± 0.4 <sup>a</sup>
Ni	mg/kg	27.6 ± 0.2 <sup>a</sup>	28.0 ± 0.7 <sup>a</sup>	27.5 ± 1.2 <sup>a</sup>	27.9 ± 0.9 <sup>a</sup>	27.6 ± 0.4 <sup>a</sup>	27.9 ± 0.4 <sup>a</sup>	27.6 ± 0.8 <sup>a</sup>	28.1 ± 0.7 <sup>a</sup>
Pb	mg/kg	23.7 ± 0.6 <sup>a</sup>	25.0 ± 0.4 <sup>c</sup>	23.6 ± 0.6 <sup>a</sup>	24.8 ± 0.5 <sup>bc</sup>	26.8 ± 6.2 <sup>ab</sup>	25.1 ± 0.7 <sup>c</sup>	23.7 ± 0.6 <sup>a</sup>	25.4 ± 1.0 <sup>c</sup>
Zn	mg/kg	76.8 ± 2.6 <sup>a</sup>	77.1 ± 2.0 <sup>a</sup>	77.7 ± 4.6 <sup>a</sup>	77.0 ± 2.7 <sup>a</sup>	78.3 ± 3.0 <sup>a</sup>	77.7 ± 2.5 <sup>a</sup>	78.6 ± 3.9 <sup>a</sup>	77.7 ± 1.8 <sup>a</sup>
Mo	mg/kg	0.5 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.6 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.6 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.6 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.6 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.6 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.6 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.6 ± 0.0 <sup>a</sup>
Tl	mg/kg	0.7 ± 0.0 <sup>b</sup>	0.8 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.7 ± 0.0 <sup>b</sup>	0.8 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.7 ± 0.0 <sup>b</sup>	0.8 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.7 ± 0.0 <sup>b</sup>	0.8 ± 0.0 <sup>a</sup>
Co	mg/kg	10.7 ± 0.1 <sup>ab</sup>	11.0 ± 0.1 <sup>ab</sup>	10.6 ± 0.3 <sup>b</sup>	11.0 ± 0.2 <sup>ab</sup>	10.7 ± 0.1 <sup>ab</sup>	11.0 ± 0.1 <sup>ab</sup>	10.7 ± 0.2 <sup>ab</sup>	11.1 ± 0.3 <sup>a</sup>
Mn	mg/kg	726.5 ± 26.6 <sup>a</sup>	773.3 ± 16.1 <sup>c</sup>	723.0 ± 16.0 <sup>a</sup>	763.3 ± 8.5 <sup>bc</sup>	726.3 ± 12.8 <sup>a</sup>	766.2 ± 18.1 <sup>bc</sup>	732.8 ± 20.2 <sup>ab</sup>	780.3 ± 20.8 <sup>c</sup>
Al	g/ kg	45.3 ± 0.7 <sup>a</sup>	46.7 ± 0.6 <sup>ab</sup>	45.2 ± 1.4 <sup>a</sup>	46.4 ± 1.4 <sup>ab</sup>	45.2 ± 0.4 <sup>a</sup>	46.2 ± 0.4 <sup>ab</sup>	45.3 ± 1.1 <sup>ab</sup>	47.3 ± 1.4 <sup>b</sup>
Fe	g/ kg	26.1 ± 0.3 <sup>a</sup>	27.8 ± 0.4 <sup>c</sup>	26.1 ± 0.9 <sup>a</sup>	27.5 ± 1.0 <sup>c</sup>	26.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	27.4 ± 0.3 <sup>bc</sup>	26.2 ± 0.6 <sup>ab</sup>	27.9 ± 0.8 <sup>c</sup>

Chapitre 3.3

**Tableau 24** : Concentrations moyennes (avec écart-types) en éléments traces métalliques disponibles et facteurs de mobilité des métaux du sol 5 mois (Mars) et 12 mois (Octobre) après les épandages des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus × giganteus* sur la parcelle Vieille Maison. Les lettres en exposant indiquent les différences significatives pour un élément (par ligne) entre les traitements et les mois.

		Traitement (t ha <sup>-1</sup> )							
		0		1		2,5		5	
		Mars	Octobre	Mars	Octobre	Mars	Octobre	Mars	Octobre
<b>ETM disponibles</b>	unité								
Cd	mg/kg	0.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.2 ± 0.0 <sup>a</sup>
Cr	mg/kg	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.09 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>
Cu	mg/kg	3.9 ± 0.0 <sup>a</sup>	3.4 ± 0.2 <sup>a</sup>	3.9 ± 0.1 <sup>a</sup>	3.38 ± 0.71 <sup>a</sup>	3.5 ± 0.7 <sup>a</sup>	3.5 ± 0.1 <sup>a</sup>	4.0 ± 0.3 <sup>a</sup>	3.4 ± 0.1 <sup>a</sup>
Ni	mg/kg	3.2 ± 0.8 <sup>a</sup>	2.4 ± 0.8 <sup>a</sup>	2.8 ± 1.6 <sup>a</sup>	2.40 ± 1.21 <sup>a</sup>	2.9 ± 1.2 <sup>a</sup>	2.4 ± 0.7 <sup>a</sup>	3.0 ± 0.6 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.5 <sup>a</sup>
Pb	mg/kg	6.6 ± 0.2 <sup>b</sup>	5.5 ± 0.2 <sup>a</sup>	6.8 ± 0.2 <sup>b</sup>	5.49 ± 1.48 <sup>a</sup>	6.6 ± 0.0 <sup>b</sup>	5.7 ± 0.0 <sup>a</sup>	6.5 ± 0.4 <sup>b</sup>	5.5 ± 0.2 <sup>a</sup>
Zn	mg/kg	3.9 ± 1.0 <sup>a</sup>	2.5 ± 0.3 <sup>a</sup>	3.5 ± 0.5 <sup>a</sup>	2.55 ± 0.47 <sup>a</sup>	3.6 ± 0.5 <sup>a</sup>	3.0 ± 1.1 <sup>a</sup>	4.3 ± 0.5 <sup>a</sup>	2.8 ± 0.3 <sup>a</sup>
<b>Facteurs de mobilité</b>									
Cd	(%)	62.1 ± 2.1 <sup>a</sup>	53.7 ± 2.4 <sup>a</sup>	52.7 ± 13.1 <sup>a</sup>	54.9 ± 1.5 <sup>a</sup>	62.2 ± 1.8 <sup>a</sup>	54.3 ± 1.4 <sup>a</sup>	61.3 ± 2.4 <sup>a</sup>	54.0 ± 1.3 <sup>a</sup>
Cr	(%)	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.2 ± 0.0 <sup>a</sup>
Cu	(%)	24.3 ± 1.0 <sup>a</sup>	21.9 ± 1.5 <sup>a</sup>	25.1 ± 1.04 <sup>a</sup>	21.9 ± 1.1 <sup>a</sup>	22.3 ± 5.5 <sup>a</sup>	22.0 ± 0.7 <sup>a</sup>	25.1 ± 1.4 <sup>a</sup>	22.0 ± 1.4 <sup>a</sup>
Ni	(%)	11.5 ± 2.9 <sup>a</sup>	8.5 ± 3.0 <sup>a</sup>	10.2 ± 5.9 <sup>a</sup>	8.6 ± 2.5 <sup>a</sup>	10.6 ± 4.5 <sup>a</sup>	8.7 ± 2.6 <sup>a</sup>	10.9 ± 2.3 <sup>a</sup>	8.1 ± 2.0 <sup>a</sup>
Pb	(%)	27.7 ± 1.3 <sup>a</sup>	22.1 ± 1.2 <sup>b</sup>	28.7 ± 0.3 <sup>a</sup>	22.1 ± 0.7 <sup>b</sup>	23.5 ± 8.9 <sup>a</sup>	22.9 ± 0.5 <sup>b</sup>	27.2 ± 1.3 <sup>a</sup>	21.7 ± 1.2 <sup>b</sup>
Zn	(%)	5.1 ± 1.1 <sup>bc</sup>	3.3 ± 0.3 <sup>a</sup>	4.5 ± 0.7 <sup>abc</sup>	3.3 ± 0.4 <sup>a</sup>	4.6 ± 0.6 <sup>abc</sup>	3.8 ± 1.3 <sup>ab</sup>	5.5 ± 0.5 <sup>c</sup>	3.6 ± 0.3 <sup>ab</sup>

### 3.1.2 Composante biologique du sol

#### Biomasse microbienne

Aucun effet des traitements de cendres de *Miscanthus* n'a été enregistré sur la biomasse microbienne et les résultats sont similaires 5 et 12 mois après l'épandage (tableau 25) et compris entre  $318 \pm 9$  (mars, traitement  $2.5 \text{ t ha}^{-1}$ ) et  $350 \pm 32 \text{ mg C kg}^{-1} \text{ sol}$  (octobre, traitement  $2.5 \text{ t ha}^{-1}$ ). De manière similaire, aucune différence du ratio  $C_{\text{mic}}/C_{\text{org}}$  n'a été enregistré (tableau 25) avec des résultats compris entre 2.4% (mars, traitement  $2.5 \text{ t ha}^{-1}$ ) et 2.9% (octobre, traitement 0, 2.5 et  $5 \text{ t ha}^{-1}$ ).

### Chapitre 3.3

**Tableau 25** : Moyennes (avec écarts-types) de la biomasse microbienne et du ratio  $C_{mic}/C_{org}$  dans le sol, 5 (Mars) et 12 mois (Octobre) après l'épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus × giganteus* sur la parcelle Vieille Maison. Les lettres en exposant indiquent les différences significatives par ligne entre les traitements et les mois.

		Traitement (t ha <sup>-1</sup> )							
		0		1		2.5		5	
		Mars	Octobre	Mars	Octobre	Mars	Octobre	Mars	Octobre
Biomasse microbienne	(mg C kg <sup>-1</sup> sol)	330 ± 45	346 ± 33	343 ± 47	347 ± 37	318 ± 9	350 ± 32	339 ± 43	353 ± 31
$C_{mic}/C_{org}$	(%)	2.5 ± 0.1	2.9 ± 0.2	2.6 ± 0.3	2.8 ± 0.3	2.4 ± 0.2	2.9 ± 0.3	2.6 ± 0.2	2.9 ± 0.2

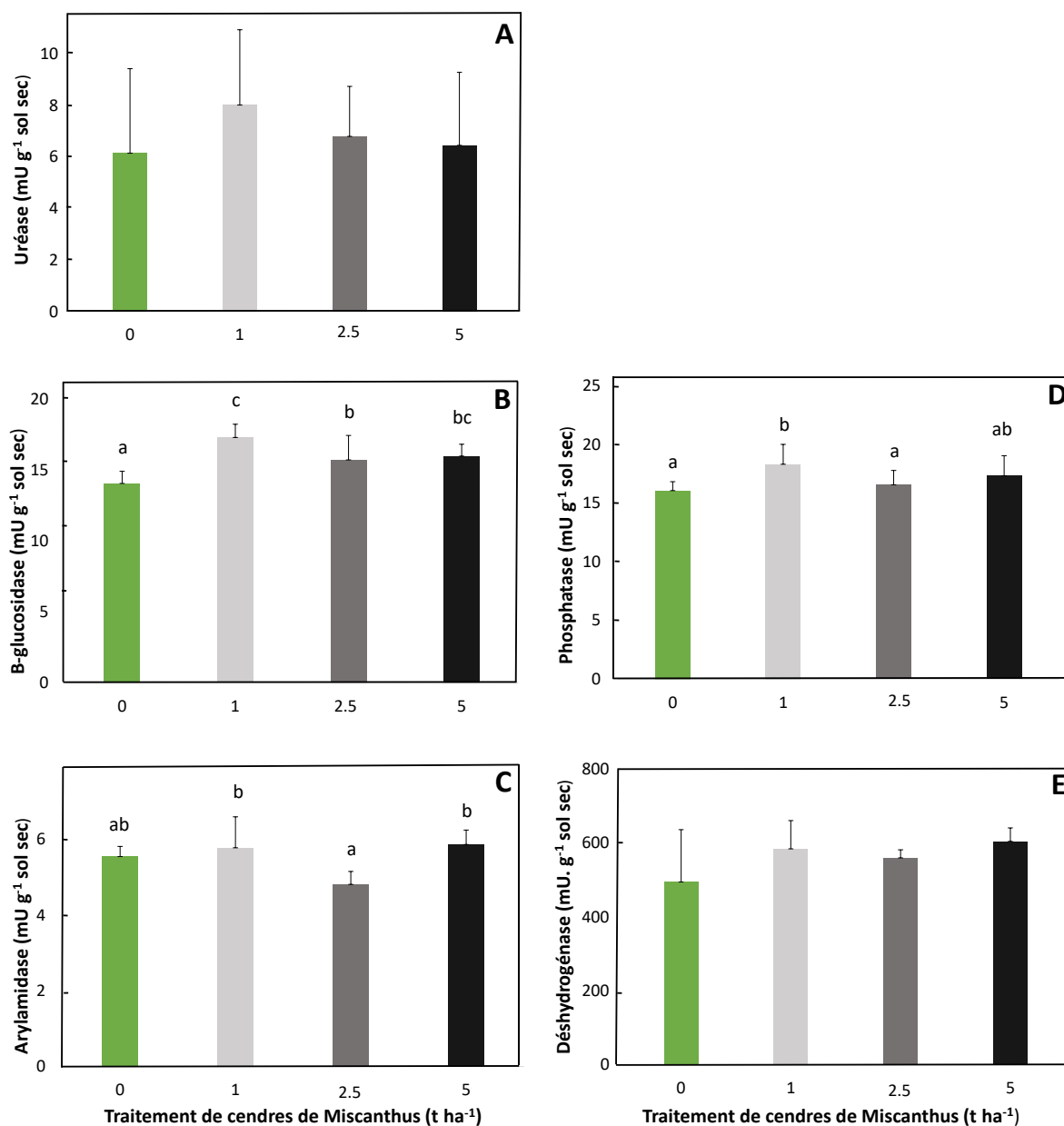


#### Potentiel d'activités enzymatiques

Douze mois après l'épandage des cendres, le potentiel d'activité de la  $\beta$ -glucosidase (figure 28B) est compris entre  $14.1 \pm 0.4$  et  $17.3 \pm 0.5$  mU. g<sup>-1</sup> de sol sec pour le traitement contrôle et 1 t ha<sup>-1</sup> respectivement. Le potentiel d'activité de la phosphatase (figure 28D) est compris entre  $16.1 \pm 0.8$  (traitement contrôle) et  $18.3 \pm 1.7$  mU. g<sup>-1</sup> de sol sec (traitement 1 t ha<sup>-1</sup>). Concernant le potentiel d'activité de l'uréase, il est compris entre  $6.1 \pm 3.3$  et  $8.0 \pm 2.9$  mU. g<sup>-1</sup> de sol sec pour les traitements contrôle et 1 t ha<sup>-1</sup> respectivement (figure 28A). Il est compris entre 4.8 mU. g<sup>-1</sup> de sol sec (traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup>) et  $5.9 \pm 0.2$  (traitement 5 t ha<sup>-1</sup>) pour l'arylamidase (figure 28C). Le potentiel d'activité de la déshydrogénase est compris entre  $494 \pm 141$  et  $604 \pm 37$  mU. g<sup>-1</sup> de sol sec pour les traitements contrôle et 5 t ha<sup>-1</sup> respectivement (figure 28E).

Aucun effet des traitements de cendres n'est enregistré pour l'uréase et la déshydrogénase. A l'inverse, les apports de cendres ont eu un effet sur les activités potentielles de la  $\beta$ -glucosidase, la phosphatase et l'arylamidase. En effet, les résultats de la  $\beta$ -glucosidase sont supérieurs dans les traitements 1 ( $p < 0.001$ ), 2.5 ( $p = 0.03296$ ) et 5 t ha<sup>-1</sup> ( $p = 0.00892$ ) de 23%, 12% et 14% respectivement par rapport au traitement contrôle. De plus, l'activité  $\beta$ -glucosidase du traitement 1 t ha<sup>-1</sup> est supérieure ( $p = 0.04628$ ) de 10% à celle du traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup> avec  $17.3 \pm 0.9$  et  $15.7 \pm 1.7$  mU. g<sup>-1</sup> de sol sec respectivement, et tend aussi à être supérieure au traitement 5 t ha<sup>-1</sup>. De la même manière, l'activité potentielle de la phosphatase dans le traitement 1 t ha<sup>-1</sup> est supérieure de 14% ( $p = 0.00222$ ) au traitement contrôle et de 11% ( $p = 0.02899$ ) au traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup> et tend à être supérieure au traitement 5 t ha<sup>-1</sup>. Le traitement 1 t ha<sup>-1</sup> est donc celui avec lequel la  $\beta$ -glucosidase et la phosphatase ont les résultats les plus élevés. Bien qu'aucune différence significative avec le traitement contrôle ne soit enregistré pour le potentiel d'activité arylamidase, les résultats des traitements 1 t ha<sup>-1</sup> ( $5.8 \pm 0.8$  mU. g<sup>-1</sup> de sol sec) et 5 t ha<sup>-1</sup> ( $5.9 \pm 0.4$  mU. g<sup>-1</sup> de sol sec) sont supérieurs de 21% ( $p = 0.0329$ ) et 23% ( $p = 0.0161$ ) respectivement par rapport au traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup> dont le potentiel d'activité est de  $4.8 \pm 0.3$  mU g<sup>-1</sup> de sol sec.

Concernant les interactions entre paramètres, des corrélations positives ont été enregistrées entre l'activité de l'uréase et la biomasse microbienne ( $r = 0.57$ ,  $p = 0.022$ ) et négativement à la teneur en P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> Olsen ( $r = -0.71$ ,  $p = 0.0022$ ), mais aucune autre corrélation n'est observée.



**Figure 28** : Moyennes (avec écarts-types) des activités enzymatiques (uréase - A, β-glucosidase - B, arylamidase - C, phosphatase – D, déshydrogénase - E) dans le sol d'un champ de blé 12 mois après l'épandage des traitements de cendres de *Miscanthus × giganteus* (0, 1, 2.5, 5 t ha<sup>-1</sup>). Les lettres indiquent les différences significatives entre traitements.

#### Communautés lombriciennes

- **En mars**

En mars, 5 mois après l'épandage des cendres, l'abondance totale (figure 30, tableau 26) est comprise entre  $435 \pm 187$  ind m<sup>-2</sup> (traitement 5 t ha<sup>-1</sup>) et  $555 \pm 183$  ind m<sup>-2</sup> (traitement contrôle). Concernant la biomasse totale en mars (figure 31, tableau 26), elle est comprise entre  $130 \pm 52$  g m<sup>-2</sup> (traitement 5 t ha<sup>-1</sup>) et  $154 \pm 77$  g m<sup>-2</sup> (traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup>). Les différents traitements de cendres de *Miscanthus* n'ont

eu aucune influence significative sur ces deux paramètres 5 mois après l'épandage des cendres. Si aucune différence significative n'est mise en avant, on peut noter, en tendance, une diminution de l'abondance lombricienne entre le contrôle et le traitement 5 t ha<sup>-1</sup> (- 21%), cette tendance n'étant pas observée pour la biomasse.

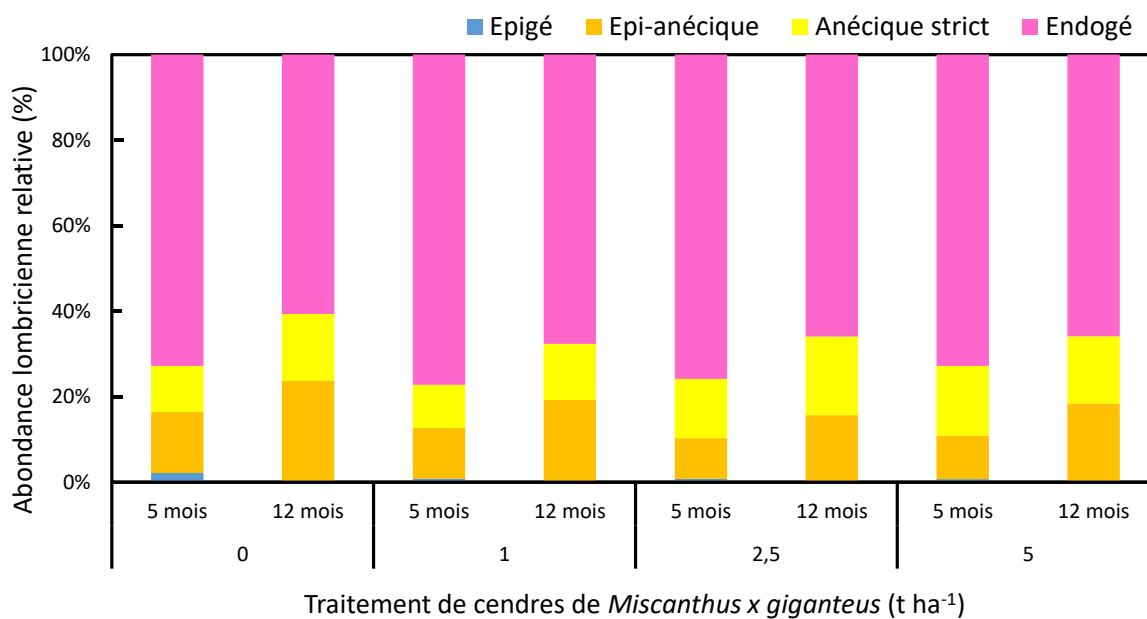
Les quatre catégories écologiques n'apparaissent pas non plus être significativement influencées par les traitements de cendres de *Miscanthus* :

- La catégorie des endogés domine l'ensemble du peuplement qui représente une abondance moyenne de 75% (figure 29, tableau 26) et qui est comprise entre 316 ± 103 ind m<sup>-2</sup> (traitement 5 t ha<sup>-1</sup>) et 405 ± 176 ind m<sup>-2</sup> (traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup>). Les endogés sont constitués des espèces *Allolobophora c. chlorotica albanica*, *Allolobophora icterica* et *Allolobophora rosea rosea* qui représentent respectivement 36%, 12% et 27% de la population en moyenne, dans l'ensemble des traitements (tableau 26). *A. c. c. albanica* est aussi l'espèce qui domine l'ensemble de la communauté lombricienne du mois de mars avec 158 ± 93 et 205 ± 98 ind m<sup>-2</sup> dans les traitements 5 et 2.5 t ha<sup>-1</sup>.
- Les anéciques stricts représentent 13% de la communauté en moyenne dans l'ensemble des traitements (figure 29) et sont constitués uniquement de l'espèce *Aporrectodea longa longa*. Cette espèce a une abondance comprise entre 47 ± 29 ind m<sup>-2</sup> (traitement 1 t ha<sup>-1</sup>) et 74 ± 30 ind m<sup>-2</sup> (traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup>).
- La catégorie des épi-anéciques représente 11% de la communauté en moyenne dans l'ensemble des traitements (figure 29). Elle est constituée exclusivement de l'espèce *Lumbricus terrestris* dont l'abondance est comprise entre 44 ± 32 ind m<sup>-2</sup> (traitement 5 t ha<sup>-1</sup>) et 79 ± 90 ind m<sup>-2</sup> (traitement contrôle).
- La catégorie des épigés représente 1% de la communauté en moyenne dans l'ensemble des traitements (figure 29) et l'unique espèce épigée enregistrée est *Lumbricus castaneus* avec, bien que cette différence ne soit pas significative ( $p > 0.05$ ), la majorité des individus récoltés dans le traitement contrôle (12 ± 28 ind m<sup>-2</sup>), alors que l'abondance des autres traitements ne dépasse pas 4 ind m<sup>-2</sup> (traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup>).

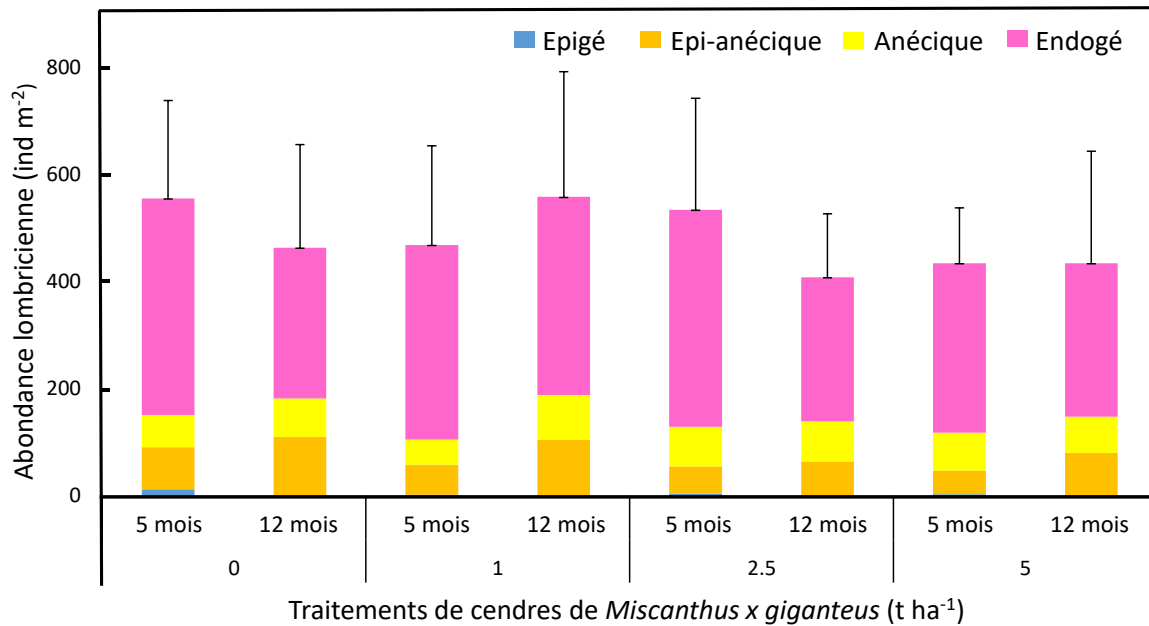
Si aucun effet traitement significatif n'est mis en avant, comparant le contrôle et le traitement 5 t ha<sup>-1</sup> on peut noter, en tendance, une diminution de l'abondance des épigés (-75%), des épi-anéciques (-44%) et des endogés (-22%), les anéciques stricts ne suivant pas cette tendance.

Dans l'ensemble des traitements du mois de mars, la communauté est constituée au total de 6 espèces (tableau 27). La richesse spécifique par traitement est comprise entre 4.69 ± 0.87 (traitement 0 t ha<sup>-1</sup>) et 4.56 ± 0.73 espèce m<sup>-2</sup> (traitement 5 t ha<sup>-1</sup>) et n'est pas modifiée par l'apport des traitements de

condres ( $p > 0.05$ , tableau 26). Concernant l'indice d'équitabilité (tableau 27), il est compris entre  $0.81 \pm 0.08$  (traitement  $1 \text{ t ha}^{-1}$ ) et  $0.87 \pm 0.09$  (traitement  $5 \text{ t ha}^{-1}$ ) et n'est pas non plus influencé par les différents traitements ( $p > 0.05$ , tableau 27). De la même manière, l'indice de Shannon, qui est compris entre  $1.76 \pm 0.28$  (traitement  $1 \text{ t ha}^{-1}$ ) et  $1.96 \pm 0.30$  (traitement  $2.5 \text{ t ha}^{-1}$ ), n'est pas affecté par les différents traitements de condres ( $p > 0.05$ , tableau 27).



**Figure 29 :** Abondance relative totale et abondance des catégories écologiques (épigé, épi-anécique, anécique strict, endogé) 5 et 12 mois après l'apport des traitements de condres de *Miscanthus x giganteus* (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) sur la parcelle Vieille Maison.



**Figure 30 :** Abondance lombricienne totale (moyenne ind m<sup>-2</sup> et écart-type) et abondance des catégories écologiques (épigé, épi-anécique, anécique, endogé ; moyenne ind m<sup>-2</sup>) 5 et 12 mois après l'apport des traitements de cendres de *Miscanthus x giganteus* (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) sur la parcelle Vieille Maison.

- **En Octobre**

En octobre, 12 mois après l'épandage des cendres, l'abondance totale (figure 30, tableau 26) est comprise entre  $408 \pm 118$  ind m<sup>-2</sup> (traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup>) et  $558 \pm 234$  ind m<sup>-2</sup> (traitement 1 t ha<sup>-1</sup>). Concernant la biomasse totale en octobre (figure 31, tableau 26), elle est comprise entre  $103 \pm 33$  g m<sup>-2</sup> (traitement contrôle) et  $148 \pm 79$  g m<sup>-2</sup> (traitement 1 t ha<sup>-1</sup>). Comme pour le mois de mars, les différents traitements de cendres de *Miscanthus* n'ont eu aucune influence significative sur ces deux paramètres, 12 mois après l'épandage des cendres. La tendance à la baisse observée en mars entre le contrôle et le traitement 5 t ha<sup>-1</sup>, n'est plus notable en octobre (-5%).

De la même manière et comme au mois de mars, les quatre catégories écologiques n'apparaissent pas non plus être modifiées par les traitements de cendres de *Miscanthus*, 12 mois après l'épandage :

- La catégorie des endogés domine l'ensemble du peuplement qui représente une abondance moyenne de 65% (figure 29) et qui est comprise entre  $269 \pm 100$  ind m<sup>-2</sup> (traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup>) et  $370 \pm 174$  ind m<sup>-2</sup> (traitement 1 t ha<sup>-1</sup>). Les endogés sont constitués des espèces *A. c. chlorotica albanica*, *A. icterica*, *A. rosea rosea* et qui représentent respectivement 36%, 26% et 12% de la population en moyenne, dans l'ensemble des traitements (tableau 26). Comme

au mois de mars, en octobre *A. c. chlorotica albanica* est aussi l'espèce qui domine l'ensemble de la communauté lombricienne dans les traitements 0, 1 et 2.5 t ha<sup>-1</sup> avec 153 ± 104 ind m<sup>-2</sup>, 203 ± 159 ind m<sup>-2</sup> et 155 ± 74 ind m<sup>-2</sup> respectivement. Contrairement aux autres traitements et à la différence du mois de mars, le peuplement du traitement 5 t ha<sup>-1</sup> est dominé par l'espèce *A. icterica* avec 141 ± 138 ind m<sup>-2</sup>.

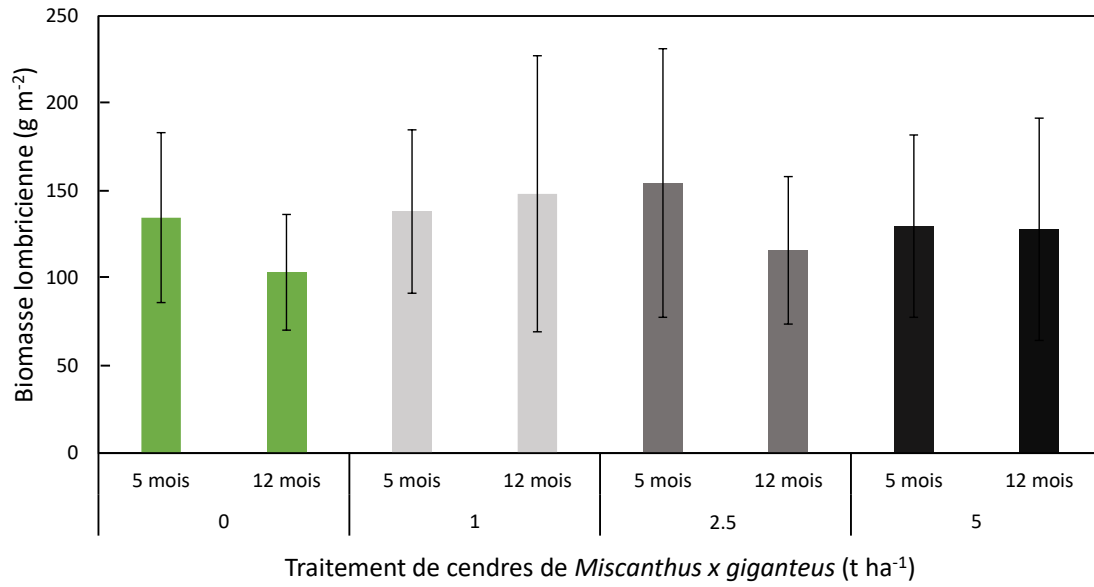
- Les anéciques stricts représentent 16% de la communauté en moyenne dans l'ensemble des traitements et sont constitués des espèces *Aporrectodea giardi* et *A. longa longa*. L'espèce *A. longa longa* domine cette catégorie avec une abondance comprise entre 63 ± 56 ind m<sup>-2</sup> (traitement 5 t ha<sup>-1</sup>) et 75 ± 46 ind m<sup>-2</sup> (traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup>) et elle représente 15% de l'ensemble de la communauté en moyenne dans l'ensemble des traitements.
- La catégorie des épi-anéciques représente 19% de la communauté en moyenne dans l'ensemble des traitements. Comme au mois de mars, elle est représentée exclusivement par l'espèce *L. terrestris* dont l'abondance est comprise entre 64 ± 40 ind m<sup>-2</sup> (traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup>) et 110 ± 88 ind m<sup>-2</sup> (traitement contrôle).
- La catégorie des épigés n'est présente que dans le traitement 5 t ha<sup>-1</sup> avec, comme au mois de mars, l'espèce *L. castaneus* comme unique représentante et une abondance de seulement 1 ± 4 ind m<sup>-2</sup> qui correspond à 0.2% de la communauté en moyenne dans ce traitement (figure 29).

Si aucun effet traitement significatif sur les catégories écologiques n'a été mis en évidence, on peut noter que comparant le contrôle au traitement 5 t ha<sup>-1</sup>, seule l'abondance des épi-anéciques aurait tendance à diminuer (-28%).

Dans les traitements 0 et 1 t ha<sup>-1</sup> du mois d'octobre, la communauté est constituée au total de 6 espèces (tableau 27). Dans les traitements 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>, elle est constituée respectivement de 5 et 7 espèces au total. La richesse spécifique est comprise entre 4.44 ± 0.51 espèces m<sup>-2</sup> (traitement 1 t ha<sup>-1</sup>) et 4.75 ± 0.68 espèces m<sup>-2</sup> (traitement 5 t ha<sup>-1</sup>) et aucune différence significative n'est enregistrée entre les traitements. Concernant l'indice d'équitabilité (tableau 27), il est compris entre 0.84 ± 0.06 (traitement 5 t ha<sup>-1</sup>) et 0.88 ± 0.07 (traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup>) et n'est pas non plus influencé par les différents traitements ( $p > 0.05$ , tableau 27). De la même manière, l'indice de Shannon, qui est compris entre 1.82 ± 0.15 (traitement 1 t ha<sup>-1</sup>) et 1.89 ± 0.22 (traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup>), n'est pas affecté par les différents traitements de cendres ( $p > 0.05$ , tableau 27).

L'apport des différents traitements de cendres n'a donc pas eu d'effet significatif sur l'ensemble de la communauté lombricienne, 5 et 12 mois après les épandages.

### Chapitre 3.3



**Figure 31** : Biomasse lombricienne (moyenne g m<sup>-2</sup> et écart-type) et biomasse des catégories écologiques (épigé, épi-anécique, anécique, endogé ; moyenne g m<sup>-2</sup>) 5 et 12 mois après l'épandage des traitements de cendres de *Miscanthus x giganteus* (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) sur la parcelle Vieille Maison.

**Tableau 26** : Abondance totale et abondance des catégories fonctionnelles, biomasse totale, indice d'équitabilité, indice de Shannon et richesse spécifique des communautés lombriciennes ( $\pm$  écarts-types) 5 (Mars) et 12 mois (Octobre) après l'épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus*  $\times$  *giganteus* sur la parcelle Vieille Maison.

		Traitement (t ha <sup>-1</sup> )							
		0		1		2.5		5	
		Mars	Octobre	Mars	Octobre	Mars	Octobre	Mars	Octobre
<b>Abondance</b>									
<b>Epigé</b>	(ind m <sup>-2</sup> )	12 $\pm$ 28	0 $\pm$ 0	2 $\pm$ 8	0 $\pm$ 0	4 $\pm$ 7	0 $\pm$ 0	3 $\pm$ 9	1 $\pm$ 4
<b>Anécique-strict</b>	(ind m <sup>-2</sup> )	60 $\pm$ 30	72 $\pm$ 54	47 $\pm$ 29	83 $\pm$ 59	74 $\pm$ 30	75 $\pm$ 46	71 $\pm$ 43	68 $\pm$ 53
<b>Epi-anécique</b>	(ind m <sup>-2</sup> )	79 $\pm$ 90	110 $\pm$ 88	56 $\pm$ 38	105 $\pm$ 78	51 $\pm$ 31	64 $\pm$ 40	44 $\pm$ 32	79 $\pm$ 51
<b>Endogé</b>	(ind m <sup>-2</sup> )	404 $\pm$ 155	281 $\pm$ 107	363 $\pm$ 160	370 $\pm$ 174	405 $\pm$ 176	269 $\pm$ 100	316 $\pm$ 103	286 $\pm$ 176
<b>Total</b>	(ind m <sup>-2</sup> )	555 $\pm$ 183	463 $\pm$ 193	468 $\pm$ 185	558 $\pm$ 234	534 $\pm$ 208	408 $\pm$ 118	435 $\pm$ 187	436 $\pm$ 209
<b>Biomasse totale</b>	(g m <sup>-2</sup> )	135 $\pm$ 49	103 $\pm$ 33	138 $\pm$ 47	148 $\pm$ 79	154 $\pm$ 77	116 $\pm$ 42	130 $\pm$ 52	129 $\pm$ 64



Chapitre 3.3

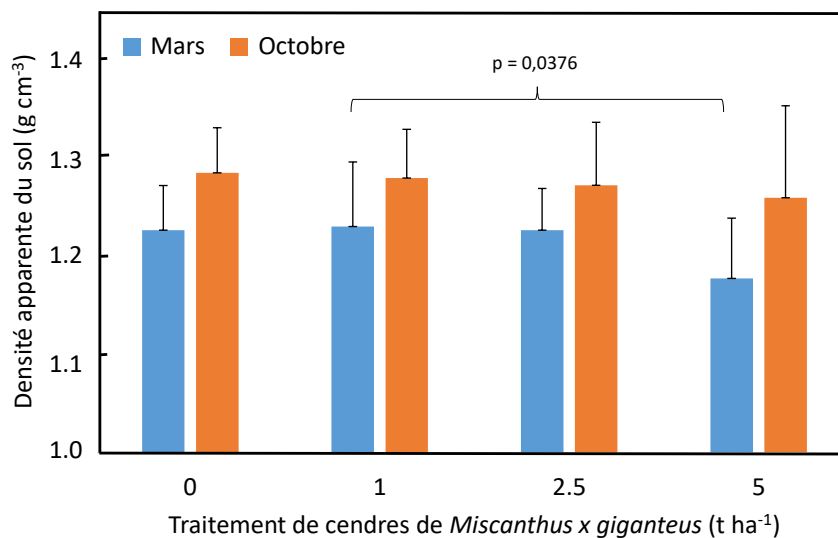
**Tableau 27** : Abondance moyenne des espèces ( $\pm$  écart-type) 5 (Mars) et 12 mois (Octobre) après l'épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus x giganteus* sur la parcelle Vieille Maison.

Taxon	Traitement (t ha <sup>-1</sup> )								
	0		1		2.5		5		
	Mars	Octobre	Mars	Octobre	Mars	Octobre	Mars	Octobre	
<b>Epigeic</b>									
<i>Lumbricus castaneus</i>	(ind m <sup>-2</sup> )	12 ± 28	0 ± 0	2 ± 8	0 ± 0	4 ± 7	0 ± 0	3 ± 9	1 ± 4
<b>Strict Anecic</b>									
<i>Aporrectodea giardi</i>	(ind m <sup>-2</sup> )	0 ± 0	2 ± 5	0 ± 0	13 ± 41	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	5 ± 20
<i>Aporrectodea longa longa</i>	(ind m <sup>-2</sup> )	60 ± 30	70 ± 56	47 ± 29	70 ± 57	74 ± 30	75 ± 46	71 ± 66	63 ± 56
<b>Epi-anecic</b>									
<i>Lumbricus terrestris</i>	(ind m <sup>-2</sup> )	79 ± 90	110 ± 88	56 ± 38	105 ± 78	51 ± 31	64 ± 40	44 ± 32	79 ± 51
<b>Endogeic</b>									
<i>Allolobophora icterica</i>	(ind m <sup>-2</sup> )	152 ± 123	109 ± 70	139 ± 98	137 ± 81	124 ± 95	93 ± 58	114 ± 43	141 ± 136
<i>Allolobophora rosea rosea</i>	(ind m <sup>-2</sup> )	68 ± 60	19 ± 15	43 ± 34	30 ± 44	76 ± 70	21 ± 22	44 ± 40	23 ± 14
<i>Allolobophora c. chlorotica albanica</i>	(ind m <sup>-2</sup> )	184 ± 115	153 ± 104	181 ± 131	203 ± 159	205 ± 98	155 ± 74	158 ± 93	122 ± 77
<b>Indice d'équitabilité</b>		0.83 ± 0.08	0.84 ± 0.10	0.81 ± 0.08	0.85 ± 0.07	0.86 ± 0.09	0.88 ± 0.07	0.87 ± 0.09	0.84 ± 0.06
<b>Indice de Shannon</b>		1.83 ± 0.31	1.87 ± 0.25	1.76 ± 0.28	1.82 ± 0.15	1.96 ± 0.30	1.89 ± 0.22	1.88 ± 0.24	1.88 ± 0.20
<b>Richesse spécifique</b>		4.69 ± 0.87	4.69 ± 0.48	4.56 ± 0.73	4.44 ± 0.51	4.88 ± 0.72	4.50 ± 0.73	4.56 ± 0.73	4.75 ± 0.68

## 3.1.3 Composante physique du sol

## Densité apparente

Cinq mois après l'épandage des cendres, le traitement 5 t ha<sup>-1</sup> a une densité apparente de 1.18 ± 0.06 g cm<sup>-3</sup> (figure 32) qui est significativement inférieure de 4% (p = 0.0376) au traitement 1 t ha<sup>-1</sup> (1.23 ± 0.06 g cm<sup>-3</sup>), mais il ne se différencie pas significativement du contrôle. Cette différence n'est pas présente 12 mois après l'épandage des cendres et la densité apparente est comprise entre 1.26 ± 0.09 (traitement 5 t ha<sup>-1</sup>) et 1.28 ± 0.06 g cm<sup>-3</sup> (traitement 1 t ha<sup>-1</sup>). L'apport de cendres à raison de 5 t ha<sup>-1</sup> aurait donc tendance à diminuer la densité apparente dans un premier temps, mais cet effet s'estomperait après 12 mois. Par ailleurs, la densité apparente est corrélée négativement à la quantité de cendres, 5 mois après l'épandage de cendres (r = -0.58, p = 0.021), ce qui n'est pas le cas après 12 mois.



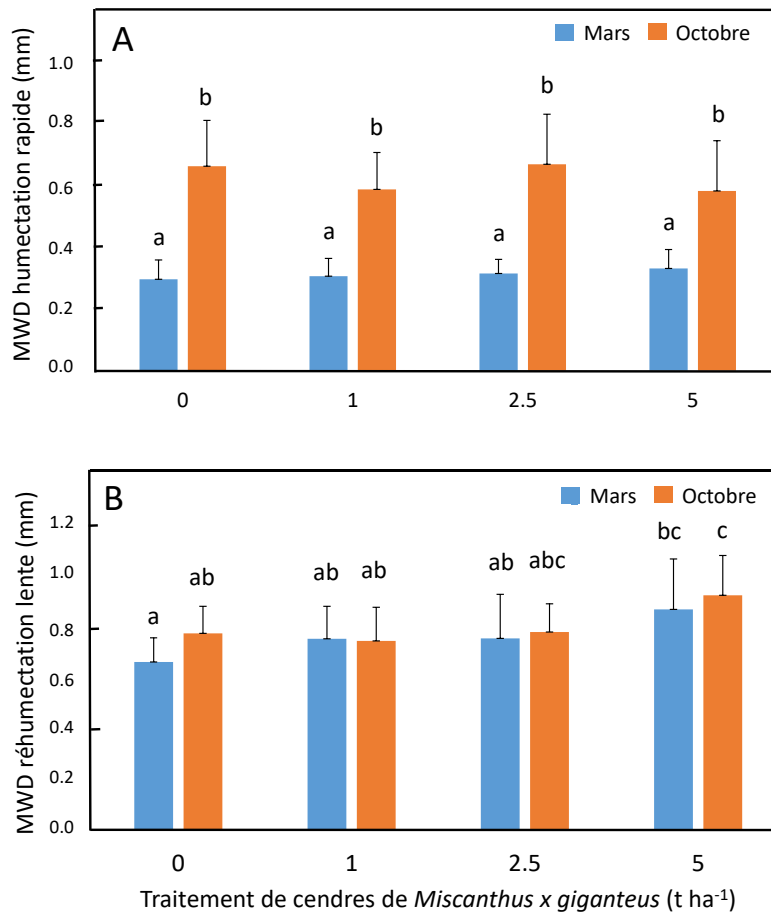
**Figure 32 :** Densité apparente moyenne (avec écart-type) du sol de la parcelle Vieille Maison 5 (Mars) et 12 mois (Octobre) après épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus × giganteus*.

## Stabilité structurale

L'apport de cendres n'a pas d'effet significatif sur la structure du sol après humectation rapide 5 mois après l'épandage (figure 33.A) et le diamètre pondéré moyen est compris entre 0.30 ± 0.06 mm (traitement contrôle) et 0.33 ± 0.06 mm (traitement 5 t ha<sup>-1</sup>). Aucune différence n'est enregistrée entre traitements après 12 mois et le diamètre pondéré moyen après humectation rapide est compris entre

$0.58 \pm 0.16$  mm (traitement  $5 \text{ t ha}^{-1}$ ) et  $0.67 \pm 0.16$  mm (traitement  $2.5 \text{ t ha}^{-1}$ ). Cependant, les résultats obtenus 12 mois après l'épandage des traitements sont significativement supérieurs à ceux obtenus après 5 mois ( $p < 2e-16$ ).

Le MWD après réhumectation lente (figure 33.B) du traitement contrôle ( $0.67 \pm 0.10$  en mars et  $0.78 \pm 0.11$  mm en octobre) est significativement inférieur à 5 et 12 mois (respectivement  $p = 0.0047$  et  $p = 0.0397$ ) de 24% et de 18% à celui du traitement  $5 \text{ t ha}^{-1}$  ( $0.88 \pm 0.20$  mm en mars et  $0.94 \pm 0.16$  mm en octobre). Par ailleurs, cinq mois après l'épandage des cendres, le MWD après réhumectation lente (figure 33.B) est corrélé aux doses de cendres ( $r = 0.56$ ,  $p = 0.025$ ). Douze mois après l'épandage des cendres, la corrélation entre le MWD et les doses de cendres est toujours présente ( $p = 0.62$ ,  $p = 0.01$ ).



**Figure 33** : Stabilité structurale (avec écart-type) des agrégats de sol après humectation rapide (A) et humectation lente (B) 5 (Mars) et 12 mois (Octobre) après l'épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus x giganteus*. Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et entre les mois.

### 3.1.4 Synthèse et agrégation des données de qualité du sol

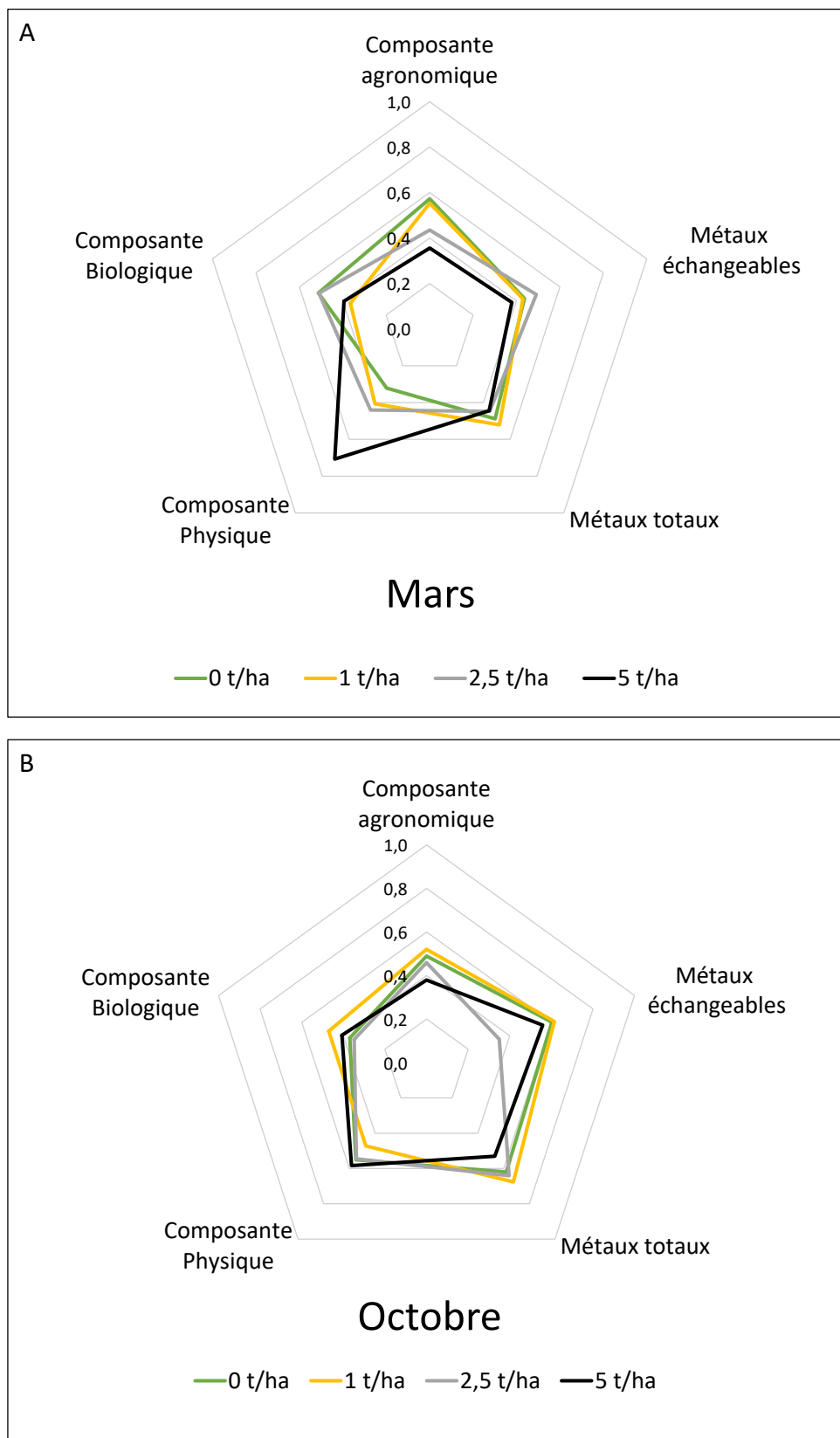
**Au mois de mars** (figure 34.A), soit 5 mois après l'épandage des cendres, le traitement contrôle obtient les meilleurs résultats de composante agronomique (0.57) alors que l'indice de cette catégorie diminue avec l'augmentation de la teneur en cendres pour atteindre 0.36 dans le traitement 5 t ha<sup>-1</sup>. La catégorie métaux échangeables présente les meilleurs résultats suite au traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup> (0.49) alors qu'encore une fois, le traitement 5 t ha<sup>-1</sup> a le résultat le plus faible pour cette catégorie (0.38). Concernant les métaux totaux, les résultats sont relativement très proches et c'est le traitement 1 t ha<sup>-1</sup> qui obtient le meilleur résultat (0.52) alors que les traitements 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup> présentent les valeurs les plus faibles (0.45 et 0.49 respectivement). Concernant la composante biologique du sol, les traitements 0 et 2.5 t ha<sup>-1</sup> ont les meilleurs résultats (0.51), alors que les traitements 1 et 5 t ha<sup>-1</sup> ont des résultats faibles et relativement très proches (0.37 et 0.39 respectivement). A l'inverse, la composante physique obtient le score le plus élevé dans le traitement 5 t ha<sup>-1</sup> (0.71) et les résultats diminuent avec la baisse de la teneur en cendres pour atteindre 0.32 dans le traitement contrôle. La moyenne de ces 5 indices révèle que le traitement contrôle (0.47) est très légèrement supérieur aux trois autres traitements qui ont tous la même valeur moyenne de 0.46, notamment en raison des scores particulièrement élevés pour les composantes agronomique et biologique. Ces moyennes totales sont à relativiser avec le fait que la composante chimique (constituée des composantes agronomique, métaux échangeables et métaux totaux) a trois fois plus de poids que les composantes biologique et physique.

**En octobre**, soit douze mois après l'épandage des cendres (figure 34.B), c'est le traitement 1 t ha<sup>-1</sup> qui obtient les meilleurs résultats pour les catégories composantes agronomiques (0.52), métaux échangeables (0.61), métaux totaux (0.68) et composante biologique (0.47). Le traitement 5 t ha<sup>-1</sup> est celui qui obtient les moins bons résultats pour la composante agronomique (0.38) et métaux totaux (0.53). Néanmoins, le traitement 5 t ha<sup>-1</sup> est celui qui a le meilleur indice pour la catégorie composante physique du sol (0.58) et c'est le seul à maintenir un score élevé entre les deux périodes d'échantillonnage. La moyenne totale la plus élevée 12 mois après l'épandage des cendres est celle du traitement 1 t ha<sup>-1</sup> (0.55) grâce à des résultats élevés au sein des composantes biologique et chimique du sol, alors que la moyenne la plus faible est obtenue par le traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup> avec 0.47.

L'apport de 5 t ha<sup>-1</sup> cendres est donc particulièrement favorable à la composante physique du sol, comparé aux autres traitements. Sur le long terme, c'est le traitement 1 t ha<sup>-1</sup> qui permet d'obtenir les meilleurs résultats des composantes chimique et biologique du sol, 12 mois après l'apport.

**Tableau 28** : Résultats agrégés des cinq catégories de la qualité du sol étudiées, 5 mois (mars) et 12 mois (octobre), après l'épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus × giganteus*.

Traitement (t ha <sup>-1</sup> )	Composante agronomique	Métaux échangeables	Métaux totaux	Composante physique	Composante biologique	Moyenne
<b>Mars</b>						
0	0,57	0,44	0,49	0,32	0,51	0,47
1	0,55	0,43	0,52	0,41	0,37	0,46
2.5	0,44	0,49	0,45	0,44	0,51	0,46
5	0,36	0,38	0,44	0,71	0,39	0,46
<b>Octobre</b>						
0	0,49	0,60	0,62	0,55	0,37	0,53
1	0,52	0,61	0,68	0,47	0,47	0,55
2.5	0,46	0,35	0,64	0,55	0,35	0,47
5	0,38	0,56	0,53	0,58	0,41	0,49



**Figure 34 :** Diagrammes en radar des résultats agrégés des cinq catégories de la qualité du sol étudiées, 5 mois (A - mars) et 12 mois (B - octobre), après l'épandage des traitements (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>) de cendres de *Miscanthus x giganteus*.

## 3.2 Rendement, composantes du rendement et qualité du blé

Suite à la récolte de juillet, le rendement en grains est compris entre  $9.8 \pm 1.4$  et  $10.3 \pm 2.2$  t ha<sup>-1</sup> pour les traitements 1 et 2.5 t ha<sup>-1</sup> respectivement. Le taux de protéine est compris entre  $11.1 \pm 0.5$  (traitement 5 t ha<sup>-1</sup>) et  $11.4 \pm 0.7$  % (traitement 1 t ha<sup>-1</sup>). Concernant le Harvest Index, il est compris entre  $55.1 \pm 2.3$ % (traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup>) et  $55.4 \pm 3.7$ % (traitement 1 t ha<sup>-1</sup>). Cependant, les traitements de cendres de *Miscanthus* n'influencent pas les différents paramètres du blé étudiés (tableau 29).

Par ailleurs, des corrélations positives ont été enregistrées entre la teneur en K totale du sol et le nombre d'épis par m<sup>2</sup> ( $r = 0.50$ ,  $p = 0.04$ ), et le K total du sol et le rendement ( $r = 0.54$ ,  $p = 0.027$ ). De plus, le nombre de grains par épi est corrélé positivement à la biomasse microbienne ( $r = 0.78$ ,  $p = 0.00038$ ), alors que le poids de mille grains est corrélé négativement à la biomasse microbienne ( $r = -0.73$ ,  $p = 0.0014$ ).

**Tableau 29** : Paramètres agronomiques ( $\pm$  écart-type) du blé d'hiver mesurés à maturité selon les différents traitements d'épandage de cendres de *Miscanthus*  $\times$  *giganteus* (0, 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup>).

	unit	Traitement (t ha <sup>-1</sup> )			
		0	1	2.5	5
<b>Nombre d'épis</b>	épi m <sup>-2</sup>	569 $\pm$ 145	545.1 $\pm$ 99.8	575.9 $\pm$ 141.2	590.7 $\pm$ 152.9
<b>Taille des épis</b>	cm	8.1 $\pm$ 0.4	8.1 $\pm$ 0.2	8.0 $\pm$ 0.2	8.2 $\pm$ 0.3
<b>Nombre de grains</b>	grain épi <sup>-1</sup>	45.1 $\pm$ 2.5	46.4 $\pm$ 5.8	44.5 $\pm$ 3.0	44.1 $\pm$ 5.3
<b>Poids de 1000 grains</b>	g ms	40.2 $\pm$ 1.2	39.4 $\pm$ 1.2	40.5 $\pm$ 1.2	38.9 $\pm$ 2.3
<b>Indice de récolte</b>	%	55.4 $\pm$ 1.7	55.4 $\pm$ 3.7	55.1 $\pm$ 2.3	53.6 $\pm$ 2.8
<b>Rendement en grains</b>	t ha <sup>-1</sup> ms	10.2 $\pm$ 2.3	9.8 $\pm$ 1.4	10.3 $\pm$ 2.2	10.0 $\pm$ 2.2
<b>Protéine des grains</b>	%	11.4 $\pm$ 0.5	11.4 $\pm$ 0.7	11.3 $\pm$ 0.6	11.1 $\pm$ 0.5

## 4. Discussion

### 4.1 Effet des cendres de *Miscanthus* sur la composante chimique du sol

L'apport de cendres n'a eu aucun effet sur la teneur en CEC,  $C_{org}$ ,  $N_{tot}$ , Calcium total, le magnésium total, le sodium total, le phosphore total et le potassium total. La comparaison, quand cela était possible, avec les valeurs de la BDAT (<https://webapps.gissol.fr/geosol/>) pour le canton de Montereau-Fault-Yonne (voir chapitre 2.2 pour la justification du choix des valeurs de la BDAT) a permis de mettre en évidence que les résultats de CEC,  $C_{org}$ ,  $N_{tot}$  et Ca total étaient inclus dans les valeurs de référence, ou très légèrement supérieurs aux valeurs de référence, suggérant que ce site a des résultats normaux pour ces propriétés.

#### **Le pH**

Les teneurs en pH dans l'ensemble des traitements sont supérieures aux valeurs recommandées comprises entre 6 et 7.8 favorisant l'assimilation des nutriments par les cultures (Truog, 1947, Viaud et al., 2018, Obriot et al., 2016, Schönegger et al., 2018). Mais cela n'a pas eu d'influence négative sur les rendements en grains dont aucune différence n'a été enregistrée entre traitements (tableau 29).

L'apport de cendres de *Miscanthus* a conduit à une augmentation du pH du sol uniquement pour le traitement 5 t ha<sup>-1</sup> après 5 mois. Cette augmentation est cohérente avec le fait que le pH de la cendre apportée était alcalin (11.8). Cependant, cette augmentation est faible par comparaison à ce qui a été mis en évidence dans la littérature à doses de cendres équivalentes (Fritze et al 1994, Bang-Andreasen et al., 2017; Bååth et al., 1995; Demeyer et al., 2001; Li et al., 2016; Odlare and Pell, 2009). Mais dans la plupart des études, la cendre est épandue sur des sols initialement acides, ce qui n'est pas le cas ici, et ce qui peut expliquer la faible augmentation de pH. En effet, Ohno (1992) a mis en évidence que l'effet alcalinisant de la cendre est d'autant plus important que le sol sur lequel elle est épandue est acide. De plus, les résultats de pH dans les traitements inférieurs à 5 t ha<sup>-1</sup> vont dans le sens de ceux obtenus par Cruz-Parades et al. (2017) qui n'ont pas non plus observé d'augmentation de pH, un an après l'apport de 2.5 t ha<sup>-1</sup> de cendres de granulés de paille sur un champ d'orge par rapport au contrôle ayant un pH de 7.7.

En outre, on peut considérer que le léger effet alcalinisant du pH est transitoire, sachant qu'aucune différence significative entre traitements n'est enregistrée, 12 mois après l'épandage des cendres. Cet effet transitoire de l'augmentation du pH suite à l'épandage de cendres de biomasse a été rapporté



dans la littérature (Demeyer et al., 2001; Odlare and Pell, 2009). En effet, Odlare et Pell (2009) ont observé en laboratoire que le pH du sol augmentait avec le taux d'application de la cendre de bois de manière temporaire. Leurs travaux ont révélé que 7 jours après l'apport de 6 t ha<sup>-1</sup> de cendres de bois, le pH avait augmenté de 0.8 points, alors qu'après 90 jours, il n'y avait plus de différence par rapport au traitement sans cendres de bois. Certains auteurs expliquent que cet effet transitoire de l'augmentation du pH suite à l'apport de cendres de bois serait dû à la solubilité des oxydes, hydroxydes et carbonates de K et Na, qui sont principalement responsables du pouvoir neutralisant de la cendre et qui ne persistent pas longtemps dans le sol (Demeyer et al., 2001). Dans le cas des cendres de *Miscanthus*, l'effet semble donc un peu plus pérenne car il a été observé jusqu'à 5 mois après épandage pour le traitement 5 t ha<sup>-1</sup>, mais reste tout de même transitoire.

La légère augmentation du pH de 0.1 point entre mars et octobre dans les traitements 0, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup> peut s'expliquer par les variations saisonnières de pH. En effet, le pH a tendance à augmenter lorsque les températures diminuent en raison de la diminution de l'activité biologique du sol qui produit du gaz carbonique (CO<sub>2</sub>) favorisant l'acidification du sol (Félix-Faure et al., 2013, Aubert et al., 2006).

L'apport de cendres de *Miscanthus* sur un sol ayant déjà un pH basique supérieur à ce qui est recommandé pour les cultures n'augmente que faiblement le pH, ce qui est intéressant si l'on cherche à fertiliser les cultures avec les cendres sans vouloir augmenter le pH du sol. Dans un tout autre contexte, il est possible que sur un sol ayant un pH acide, l'apport de ces mêmes doses de cendres de *Miscanthus* conduise à une élévation plus importante du pH, ce qui permettrait d'atteindre des valeurs optimales pour les cultures. Cela étant, il est nécessaire de rester vigilant concernant des valeurs de pH au-dessus des valeurs recommandées, cela pouvant conduire à des carences, notamment en cuivre et manganèse pour la culture du blé (Aubert et al., 2006).

#### **Le phosphore**

Le blé tendre étant une culture peu exigeante, la teneur minimale en phosphore Olsen du sol acceptable en situation sans apport, ou « seuil d'impasse », est de 70 mg kg<sup>-1</sup> sur un sol limoneux dans la région « Centre Bassin Parisien » (Denoroy et al., 2019). Au moment des semis, la teneur en phosphore Olsen dans la parcelle Vieille Maison était déjà 9% supérieure à ce seuil d'impasse en raison des apports de 10 t ha<sup>-1</sup> de compost tous les 3 ans. Les apports de cendres de *Miscanthus* ont conduit à une augmentation de ces concentrations déjà élevées. En effet, l'apport de cendres de *Miscanthus* a eu un effet positif sur la teneur en phosphore disponible dans le sol dès le traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup>. Par ailleurs, cette augmentation, bien que transitoire, semble être supérieure en comparaison d'un apport de cendres de bois ou de pailles. À dose de cendres équivalente, cette augmentation est supérieure à

ce qui a été observé par Li et al. (2016) dans les premiers mois suivant l'épandage de cendres de bois ou de pailles dans un champ d'orge. Li et al. (2016) n'ont enregistré une augmentation du P disponible dans le sol qu'avec un apport de 22.7 t ha<sup>-1</sup> de cendres de biomasse, alors qu'aucune augmentation du phosphore disponible n'a été enregistrée avec des apports de 2.3 t ha<sup>-1</sup> de cendres de biomasse. Ces différences de résultats avec Li et al. (2016) peuvent s'expliquer par les caractéristiques des cendres de *Miscanthus* appliquées dans notre étude qui ont :

- une teneur en phosphore total qui est supérieure de 20% et 48% par rapport aux cendres de paille et de bois respectivement utilisées par Li et al. (2016) (tableau 30).
- une fraction soluble de phosphore qui correspond à 67% du phosphore total dans notre étude, alors qu'elle n'est que de 3% et 0.01% dans les cendres de paille et de bois respectivement utilisées par Li et al. (2016) et Cruz-Parades et al. (2017).

Ces différences des teneurs en phosphore total et disponible dans les cendres s'expliquent par :

- le type de biomasse ligneuse utilisée qui est un facteur important de la teneur en phosphore total des cendres. En effet, les cendres issues de la combustion de culture ayant des taux de croissance élevés, telles que les cultures, ont la caractéristique d'être plus riches en phosphore que les cendres de bois (Bostrom et al., 2012; Li et al., 2016).
- la température de combustion des cendres qui influence leurs teneurs en phosphore disponible. En effet, la disponibilité du phosphore diminue avec l'augmentation de la température de combustion, en raison de sa vaporisation sous forme de KPO<sub>3</sub> à température élevée (Wu et al., 2011, Li et al., 2016).

Mais d'autres facteurs peuvent aussi expliquer l'augmentation de la teneur en phosphore disponible suite à l'apport de cendres de biomasse. Par exemple, Mercl et al. (2020) n'ont pas observé d'augmentation de la disponibilité du phosphore disponible avec un apport de cendres de bois de 7 t ha<sup>-1</sup> seul, alors que leurs résultats suggèrent une augmentation du phosphore disponible, lorsque cette même quantité de cendres est associée à une inoculation de souche fongique (*Penicillium sp.* et *Trichoderma harzianum*). Dans notre essai, bien qu'aucune corrélation ne soit enregistrée entre la biomasse microbienne et la teneur en phosphore disponible, la composition des communautés microbiennes initialement présentes dans le sol a pu participer à cette augmentation de la disponibilité du phosphore.

En outre, cette augmentation du phosphore disponible suite à l'apport de cendres semble aussi être dépendante du type de sol (Denoroy et al., 2019). En effet, elle a notamment été observée par Ochecova et al. (2014) dans un Cambisol mais pas dans un Fluvisol, après l'apport de cendres volantes de bois. D'après les auteurs, la diminution de la solubilité du phosphore peut s'expliquer par un blocage lié aux aluminosilicates ou à la formation de phosphate d'aluminium faiblement soluble (Ochecova et

al., 2014, Demeyer et al., 2001). Le fait que notre étude ait eu lieu sur un Cambisol a donc pu favoriser la disponibilité du phosphore suite à l'épandage des cendres, ce qui n'aurait peut-être pas été le cas dans un autre type de sol.

Cependant, un an après l'épandage des cendres, les résultats révèlent une diminution de la teneur en phosphore disponible dans l'ensemble des traitements dont les principales causes pourraient être : (i) les exportations par la plante et (ii) la lixiviation. Bien que l'aptitude à la lixiviation du phosphore soit généralement assez faible, elle pourrait être facilitée par des teneurs importantes en phosphore disponible (Denoroy et al., 2019). Par ailleurs, un apport trop important en phosphore peut avoir des effets délétères sur l'environnement, conduisant à une eutrophisation des eaux en milieu continental (Denoroy et al., 2019, Sims et al., 2000). En France, bien que la norme Eau Potable limite le phosphore à  $2.2 \text{ mg L}^{-1}$  (Denoroy et al., 2019), il n'y a pas de limitation nationale des apports en phosphore sur l'ensemble du territoire, excepté pour la Vendée. En effet, c'est la seule région ayant déterminé un plafond d'épandage du phosphore limité à  $100 \text{ kg ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$  (Delias et al., 2017), ce qui reviendrait dans notre étude (avec  $54 \text{ g kg}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$ , tableau 1) à n'appliquer au maximum que  $4.2 \text{ t ha}^{-1}$  de cendres de *Miscanthus*.

Par ailleurs, malgré une augmentation de la teneur en phosphore disponible, aucun effet positif sur le rendement en blé n'a été observé. Cette absence d'augmentation du rendement en blé est cohérente avec le fait que l'offre du sol en phosphore a dépassé le seuil de non réponse de la culture (Denoroy et al., 2019). De plus, ce résultat est aussi cohérent avec ce qui a été observé par Li et al. (2016) dans un champ d'orge, où l'augmentation du P disponible suite à l'apport de  $24.4 \text{ t ha}^{-1}$  de cendres de bois n'a pas eu d'impact sur le rendement de la plante cultivée, en raison des teneurs déjà élevées en phosphore disponible.

Nos travaux mettent donc en évidence que, même avec des doses de cendres de *Miscanthus* relativement faibles, l'apport en phosphore disponible peut être important (jusqu'à 60% de  $\text{P}_2\text{O}_5$  Olsen en plus par rapport au contrôle avec  $5 \text{ t ha}^{-1}$ ), mais que cet effet est transitoire.

**Tableau 30 :** Comparaison des teneurs en phosphore, potassium et cadmium des cendres de *Miscanthus × giganteus* utilisées dans cette étude avec des cendres issues de biomasses ligneuses d'origines différentes.

Élément	Unité	<i>Miscanthus × giganteus</i> (notre étude)	<i>Miscanthus × giganteus</i> (Lanzerstorfer, 2017)	Granulés de Paille 'AmS' (Li et al., 2016)	Granulés de bois 'AmW' (Li et al., 2016)
P total	g kg <sup>-1</sup> ms	24.0	11.5	19.8	16.2
P soluble	% de P total	67.40	-	3.20	0.01
K total	g kg <sup>-1</sup> ms	150.1	107.0	126.1	92.7
K soluble	% de K total	112.3	-	-	-
Cd total	mg kg <sup>-1</sup> ms	0.07	2.00	3.90	7.80

### Le potassium

L'apport de cendres de *Miscanthus* a conduit à une augmentation de la teneur en potassium disponible à partir du traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup> cinq mois après l'épandage des cendres et était toujours observable 1 an après l'épandage des cendres, mais uniquement dans le traitement 5 t ha<sup>-1</sup>. L'augmentation du potassium disponible après un apport de cendres de biomasse n'est pas surprenante, sachant que les teneurs en K<sub>2</sub>O totales de la cendre correspondent à 18% de la masse des cendres et que ce K<sub>2</sub>O est sous forme disponible (tableau 18). De plus, ces teneurs en potassium dans la cendre sont élevées par comparaison au compost dont 10 t ha<sup>-1</sup> sont épandues tous les 3 ans, pour son apport, entre autres, de potassium et qui est constitué de 0.31% de K<sub>2</sub>O. La forte disponibilité du potassium dans les cendres de biomasse a aussi été observée dans les cendres de bois (Demeyer et al., 2001). De plus, Singh et al (2017) ont enregistré une teneur en K disponible dans le sol supérieure, après un apport de 25 t ha<sup>-1</sup> de cendres de bois, par comparaison à un apport des mêmes quantités de balles de riz ou de fumier de vache, car la cendre contiendrait plus de potassium que ces deux autres amendements. D'après Ulery et al (1993), la disponibilité du potassium dans les cendres de bois serait due à son importante solubilité dans l'eau qui le rendrait aussi plus sensible à la lixiviation, expliquant ainsi l'effet transitoire de l'augmentation du potassium disponible dans le sol, après l'apport de cendres de biomasse. Cependant, dans notre étude, la teneur en potassium disponible était toujours supérieure dans le traitement 5 t ha<sup>-1</sup> un an après l'épandage des cendres de *Miscanthus*. Une des raisons qui pourrait expliquer cet effet non transitoire 1 an après l'épandage des cendres de *Miscanthus* est la faible pluviométrie entre octobre 2018 et septembre 2019 qui était de 553 mm, alors que la moyenne annuelle est de 677 mm pour la station de Melun (données Météo France). Cette faible pluviométrie est associée à une forte évapotranspiration qui a atteint 918 mm l'année de l'expérience (alors que la moyenne entre 2004 et 2019 est de 841 mm, source : Météo France) conduisant à un bilan hydrique négatif qui pourrait expliquer la faible lixiviation du potassium.

Comme pour le phosphore, l'augmentation du potassium disponible n'a pas eu d'impact sur le rendement en raison des teneurs déjà élevées en potassium dans le sol. Au moment des semis, la teneur en  $K_2O$  échangeable dans la parcelle Vieille Maison était de  $351 \text{ mg kg}^{-1}$  ce qui est 134% fois supérieure au seuil d'impasse du potassium échangeable ( $150 \text{ mg K kg}^{-1} \text{ sol sec}$ ) sur sol limoneux dans la région « Centre Bassin Parisien » (Denoroy et al., 2019).

Il n'existe pas de plafond d'épandage du potassium, même si d'après la norme Eau Potable, le potassium ne doit pas dépasser  $12 \text{ mg L}^{-1}$ . Alors qu'aucune diminution de Ca et Mg n'a été enregistrée dans notre étude suite à l'apport de cendres, Mercl et al. (2016) mettent en évidence que l'apport de cendres de paille contenant de fortes doses de K sous forme de KCl et de  $K_2SO_4$  peuvent conduire au relargage de Ca et Mg, provenant du complexe de sorption, dans la solution du sol entraînant un risque de lessivage de ces nutriments. De plus, afin d'éviter des carences en magnésium, le ratio  $K_2O/MgO$  ne doit pas dépasser 2.5 (Aubert et al., 2006). Or, dans notre étude, il n'était que de 0.06. Avec 40% de  $K_2O$  échangeable en plus par rapport au contrôle, 12 mois après l'épandage dans le traitement  $5 \text{ t ha}^{-1}$ , les cendres de *Miscanthus* permettent donc, dans le contexte pédoclimatique de notre étude, un apport en  $K_2O$  même à des doses relativement faibles. Cet apport n'est pas transitoire et ne conduit pas à des carences en MgO.

#### **Eléments traces métalliques**

Dans l'ensemble des traitements, parmi les ETM mesurés, les teneurs totales en Cd, Cu, Ni, Pb et Zn du sol étaient inférieures aux valeurs de référence (Percentile 95) des sols agricoles d'Île-de-France évoquées par Mathieu et al (2008), suggérant qu'au dessus de ce seuil<sup>2</sup> les concentrations en éléments traces dans les horizons de surface ne sont pas normales. Seules les teneurs en Cr des traitements  $1 \text{ t ha}^{-1}$  et  $2.5 \text{ t ha}^{-1}$  du mois de mars dépassaient la valeur de référence de  $65.2 \text{ mg kg}^{-1}$  suggérée par Mathieu et al. (2008) avec  $66.3 \pm 1.8$  et  $67.1 \pm 4 \text{ mg kg}^{-1}$  respectivement. Cependant, ces concentrations n'étaient pas significativement différentes du traitement contrôle et elles étaient même très proches des concentrations des traitements contrôle ( $64.6 \pm 2.5 \text{ mg kg}^{-1}$ ) et  $5 \text{ t ha}^{-1}$  ( $62.8 \pm 6.1 \text{ mg kg}^{-1}$ ), ce qui suggère que ces valeurs élevées par rapport au P95 ne sont pas dues à l'épandage des cendres, mais à des variations des teneurs en chrome dans le sol de la parcelle. Il est à noter que ces teneurs en Cr

---

<sup>2</sup> Les teneurs en ETM au-dessus du percentile 95 indiquent des concentrations en ETM qui ne sont pas normales dans les horizons de surface.

étaient inférieures à la valeur de référence proposée à l'échelle nationale par Villanneau et al. (2008) pour cet élément et qui est de  $158.4 \text{ mg kg}^{-1}$ . Par ailleurs, aucun effet négatif sur l'écosystème n'ayant été enregistré (rendement, biomasse microbienne, communauté lombricienne...), ces deux traitements sont seulement considérés comme étant légèrement contaminés par rapport au référentiel régional et non pollués (Mathieu et al., 2008).

Comparé au traitement contrôle sans apport de cendres, aucune augmentation significative des teneurs totales, ni des teneurs disponibles en ETM, ainsi que du facteur de mobilité, n'a été enregistrée suite à l'apport de cendres de *Miscanthus*, et cela aux deux dates d'échantillonnages. Cette observation n'est pas surprenante, sachant que les concentrations en ETM dans les cendres de *Miscanthus* utilisées sont inférieures aux valeurs seuils autorisées par les normes compost (NF U 44-095, 2002) et engrais (NF U 42-001-1, 2011). L'augmentation des teneurs du sol en ETM et notamment du Cd est l'une des principales préoccupations environnementales suite à l'épandage de cendres de biomasse (Zhan et al., 1996). Dans notre étude, les teneurs en Cd de la cendre ( $0.07 \text{ mg kg}^{-1}$ , tableau 19) sont inférieures aux teneurs enregistrées dans la cendre de bois ( $1.5 - 25 \text{ mg kg}^{-1}$ ) par Park et al. (2012) et dans la cendre volante de paille ( $10 \text{ mg kg}^{-1}$ ) par Hansen et al. (2001). Alors que certains auteurs enregistrent des augmentations en Cd et Cr suite à l'épandage de cendres de bois (Huotari et al., 2015), nos résultats sont cohérents avec ceux obtenus par Omil et al. (2007) qui n'ont pas enregistré d'augmentation en ETM, après un épandage de  $3.5 \text{ t ha}^{-1}$  de cendres de bois contenant 9 fois plus de Cd que la cendre utilisée dans notre étude ( $0.65 \text{ vs } 0.07 \text{ mg kg}^{-1}$ ).

Il est à noter que dans l'ensemble des traitements y compris le contrôle, des augmentations significatives des teneurs totales en Fe, Mn, Tl et Pb ont été enregistrées entre mars et octobre 2019 au sein d'un même traitement. La composition des produits phytosanitaires épandus entre ces deux dates ne permet pas d'expliquer cette augmentation ; une autre source potentielle pourrait être un apport atmosphérique, mais aucune donnée n'a pu être mobilisée pour tester cette hypothèse.

Aux doses apportées, l'épandage des cendres de *Miscanthus* n'a donc pas conduit à une augmentation significative de la teneur en ETM dans le sol, ce qui permet d'envisager son utilisation en tant que fertilisant sans risque de contamination. Cependant, il est nécessaire de rester vigilant car même si le transfert des ETM du sol à la partie aérienne du *Miscanthus* est très faible et notamment trop faible pour une utilisation du *Miscanthus* en phytoextraction (Nsanganwimana et al., 2014), sa culture sur site pollué pourrait conduire à des teneurs en ETM dans les cendres supérieures à ce qui est enregistré dans notre étude et à une potentielle contamination. La connaissance de la composition en ETM des cendres issues de la combustion du *Miscanthus* reste donc une étape incontournable avant son utilisation comme fertilisant.

## 4.2 Effet des cendres de *Miscanthus* sur les propriétés biologiques du sol

### Biomasse microbienne

Les valeurs de biomasse microbienne dans l'ensemble des traitements sont en moyenne 17% supérieures à la valeur de référence maximale en culture (291.5 mg C / kg sol sec) suggérée par Cluzeau et al. (2012) pour la région Bretagne. Par ailleurs, nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Petitjean et al. (2019) sur la zone d'essai cultivée de Colmar, ayant des caractéristiques proches de notre site (texture limono-argileuse,  $C_{org} = 16 \pm 0.9$  g/kg,  $pH = 8.5 \pm 0.0$ ), avec une biomasse microbienne de  $356 \pm 88$  mg de C / kg de sol et un ratio  $C_{mic}/C_{org}$  de  $3.1 \pm 0.7\%$ .

Nos résultats ne révèlent aucune différence de biomasse microbienne entre traitements 5 et 12 mois après les apports des cendres de *Miscanthus*. Ces observations sont cohérentes avec celles obtenues par Fritze et al. (1994) qui, deux ans après l'apport de 1, 2.5 et 5 t ha<sup>-1</sup> de cendres de bois dans un peuplement de pins sylvestres, n'observent pas d'augmentation de biomasse microbienne. Cependant, nos résultats ne vont pas dans le sens des nombreux travaux ayant mis en évidence un effet positif de l'apport de cendres sur les communautés microbiennes (Bang-Andreasen et al., 2017; Demeyer et al., 2001; Lim and Choi, 2014; Noyce et al., 2016; Vestergård et al., 2018; (Santás-Miguel et al., 2020, Mortensen et al., 2020). Toutefois, il est important de noter que l'ensemble de ces travaux ont été effectués sur des sols acides et que l'apport de cendres permet une augmentation du pH qui est l'un des premiers facteurs favorisant la biomasse microbienne notamment en sol acide (Vestergård et al., 2018, Horrigue et al., 2016, Wardle, 1992). Dans notre étude, les valeurs de pH et de biomasse microbienne relativement élevées en condition contrôle expliquent donc l'absence d'effet des traitements de cendres de *Miscanthus* sur la biomasse microbienne du sol. De plus, l'effet des cendres de biomasse sur le pH du sol étant généralement transitoire (voir « 4.1.1 pH »), leur effet sur la biomasse microbienne l'est donc aussi (Perucci et al., 2008), même si certains travaux ont mis en évidence une augmentation du pH et de l'abondance des bactéries hétérotrophes plus de deux ans après l'apport de 6 t ha<sup>-1</sup> de cendres de biomasse sur un sol acide (Mortensen et al., 2020).

L'effet des cendres de biomasse sur la biomasse microbienne d'un sol basique étant peu documenté, il est difficile d'établir des comparaisons de nos résultats avec la littérature. A notre connaissance, seuls Perucci et al (2008) évaluent l'effet d'apports de cendres de biomasse (entre 5 et 20 t ha<sup>-1</sup>) sur un sol agricole ayant un pH proche de notre site (8.26). Leurs résultats révèlent une diminution de la biomasse microbienne après 1 mois, cet effet négatif n'étant plus visible après un an (Perucci et al. 2008). D'après les auteurs, cet effet transitoire négatif serait dû à l'augmentation du pH ainsi qu'à

l'occlusion des pores du sol qui conduiraient à un manque d'oxygène et donc à une diminution des micro-organismes aérobies (Perucci et al. 2008). Dans le cas de notre étude, les prélèvements de sol ayant eu lieu 5 mois au minimum après l'épandage de cendres, même si une augmentation du pH transitoire a pu avoir lieu accompagnée d'un effet délétère sur la biomasse microbienne dans le mois suivant l'épandage, le pas de temps de nos analyses (5 et 12 mois) ne nous permet pas d'observer cet effet. En outre, bien que statistiquement différente, l'augmentation de pH de 0.2 unité dans le traitement 5 t ha<sup>-1</sup> comparé au contrôle après 5 mois (tableau 22) semble être trop faible pour avoir une influence sur la biomasse microbienne.

La divergence des résultats, suite à l'apport de cendres de biomasse, observée dans les différentes études présentées ci-dessus, incluant notre étude, révèle donc que, si l'apport de cendres peut influencer les micro-organismes du sol, ces modifications dépendent des communautés initialement présentes, du type de sol, du pH, de l'usage du sol, ainsi que de la dose et de la composition de la cendre épandue. Notre étude a montré que, dans le contexte agropédoclimatique de notre site, aux deux périodes d'échantillonnage et selon les quantités de cendres apportées et les propriétés chimiques de ces cendres, les apports de cendres n'ont pas influencé la biomasse microbienne, que ce soit positivement ou négativement. Cette absence d'effet délétère renforce la possibilité d'utiliser les cendres, sans risque pour la biomasse microbienne.

#### **Potentiel d'activités enzymatiques**

Pour rappel, les mesures d'activités enzymatiques potentielles ont été réalisées à une seule date, soit 12 mois après l'épandage des cendres. Les résultats d'activités enzymatiques de notre étude ont été positionnés au regard des valeurs obtenues par la plateforme Biochem-Env sur 300 sites cultivés (Mougin, 2018) dans le cadre du projet national de recherche du réseau de mesure de la qualité des sols (RMQS), excepté pour l'activité déshydrogénase qui n'était pas disponible. De la même manière, les résultats provenant de 84 sites cultivés du projet Bioindicateur de l'ADEME ont été utilisés afin de positionner la  $\beta$ -glucosidase, la phosphatase et l'arylamidase.

Dans l'ensemble des traitements, incluant le contrôle, les activités enzymatiques potentielles mesurées étaient proches des valeurs proposées par la plateforme Biochem-Env (15.8 mU g<sup>-1</sup> sol sec) et supérieures aux valeurs obtenues par d'autres études dans des conditions similaires. Ainsi, la  $\beta$ -glucosidase, impliquée dans la minéralisation du carbone (Gil-Sotres et al., 2005), était en moyenne deux fois supérieure à la valeur de  $7.63 \pm 5.67$  mU g<sup>-1</sup> de sol sec obtenue par le programme national



Bioindicateur 2 de l'ADEME sur sol cultivé (<https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/>). La phosphatase, qui est impliquée dans la minéralisation du phosphore (Gil-Sotres et al., 2005), était dans l'ensemble des traitements, inférieure à la moyenne de  $39.5 \text{ mU g}^{-1} \text{ sol sec}$  ainsi qu'au premier quantile proposé par la plateforme Biochem-Env (Mougin, 2018). Cependant, dans notre étude les valeurs de cette activité enzymatique étaient en moyenne supérieures de 315% aux valeurs obtenues par Petitjean et al. (2019) ( $4.11 \pm 0.33 \text{ mU g}^{-1} \text{ sol}$ ) sur le site de Colmar dont le sol présente des caractéristiques similaires à celles du sol de notre présente étude (texture limono-argileuse,  $C_{\text{org}} = 16 \pm 0.9 \text{ g/kg}$ ,  $\text{pH} = 8.5 \pm 0.0$ ). L'arylamidase, impliquée dans le cycle de l'azote (Tabatabai et al., 2002), était inférieure à la valeur moyenne ( $8.7 \text{ mU g}^{-1} \text{ sol sec}$ ) proposée par la plateforme Biochem-Env pour cette activité enzymatique (Mougin, 2018). Néanmoins, les résultats étaient supérieures au premier quantile ( $4.0 \text{ mU g}^{-1} \text{ sol sec}$ ) de la plateforme Biochem-Env (Mougin, 2018) et ils étaient supérieurs en moyenne de 50% à la moyenne de référence sur site cultivé de  $3.71 \pm 2.36 \text{ mU g}^{-1} \text{ de sol sec}$  suggéré par le projet bioindicateur de l'ADEME (<https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/>). L'uréase, impliquée dans le cycle de l'azote (Gil-Sotres et al., 2005), avait des teneurs inférieures à la valeur moyenne proposée par la plateforme Biochem-Env ( $9.0 \text{ mU g}^{-1} \text{ sol sec}$ ) (Mougin, 2018). Cependant, les résultats étaient tout de même supérieurs au premier quantile ( $5.6 \text{ mU g}^{-1} \text{ sol sec}$ ) et ils étaient inclus dans la gamme obtenue par Obriot et al. (2016) sur un site limono-argileux cultivé (entre  $2.6$  et  $11.9 \text{ mU g}^{-1} \text{ sol sec}$ ).

Ces activités enzymatiques potentielles, révèlent donc que l'activité microbienne et les cycles du carbone et de l'azote issus de cette activité, se déroulent correctement avec ou sans les apports de cendres de *Miscanthus* un an après l'épandage, suggérant un potentiel intrinsèque favorable du sol du site. De plus, ces résultats sont aussi cohérents avec ceux de biomasses microbiennes élevées dans l'ensemble des traitements (tableau 25), sachant que les micro-organismes font partie des principaux producteurs d'enzymes du sol (Karaca et al., 2010).

Cela étant, l'apport de cendres a malgré tout permis de stimuler la production de certaines enzymes. En effet, la  $\beta$ -glucosidase et la phosphatase ont été positivement impactées par l'apport des traitements de cendres de *Miscanthus* par rapport au contrôle. Le potentiel d'activité  **$\beta$ -glucosidase** était significativement supérieur au traitement contrôle dans les traitements 1, 2.5 et 5  $\text{t ha}^{-1}$ . De plus, le traitement 1  $\text{t ha}^{-1}$  était significativement supérieur au traitement 2.5  $\text{t ha}^{-1}$ . La cendre de *Miscanthus* pourrait donc avoir un effet stimulant sur cette enzyme notamment à faible dose (1  $\text{t ha}^{-1}$ ). L'effet sur les activités enzymatiques après plusieurs mois d'un apport de faibles doses de cendres de biomasse sur un sol basique étant peu documenté, il est difficile de comparer les résultats obtenus avec d'autres études. Cependant, à des doses beaucoup plus élevées de cendres de bois (70  $\text{t ha}^{-1}$ ) et 2 mois seulement après l'apport, Pukalchik et al. (2018) ont enregistré une diminution de l'activité  $\beta$ -

glucosidase. Nos résultats provenant des prélèvements effectués 12 mois après l'épandage ne nous permettent pas de connaître la dynamique de réponse des activités enzymatiques. Il n'est donc pas possible de savoir si la différence de réponse avec Pukalchik et al. (2018) est due à la dose de cendre apportée ou au délai entre l'épandage et le moment d'échantillonnage. Cependant, nos résultats obtenus après 1 an permettent de conclure que l'apport de cendres de *Miscanthus*, compte tenu des caractéristiques chimiques de nos cendres, favorise la production de cette enzyme et, de ce fait, la dynamique du carbone, et ce, dès un apport de  $1 \text{ t ha}^{-1}$ .

Comme pour la  $\beta$ -glucosidase, l'activité de la **phosphatase** est significativement supérieure dans le traitement  $1 \text{ t ha}^{-1}$  par rapport à celle du traitement contrôle, alors que les autres traitements ne se différencient pas du traitement contrôle. Contrairement à nos résultats, Zimmermann et Frey (2002) ont enregistré une diminution de l'activité phosphatase acide d'environ 50% plus d'un an après l'apport de  $8 \text{ t ha}^{-1}$  de cendres de bois sur un sol de forêt acide. Dans le même sens, Pitchel et Hayes (1990) et Pukalchik et al. (2018) ont enregistré une diminution de l'activité phosphatase moins de 2 mois après l'apport de plus de  $60 \text{ t ha}^{-1}$  de cendres. Comme pour la  $\beta$ -glucosidase, même s'il est difficile de comparer nos résultats obtenus à ceux de Zimmermann et Frey (2002) qui travaillent sur sol acide, ou ceux de Pitchel et Hayes (1990) et Pukalchik et al. (2018) qui utilisent des doses de cendres jusqu'à 12 fois supérieures et qui évaluent l'effet des cendres sur les enzymes à court terme, nos travaux révèlent que, sur le long terme (12 mois) et dans les conditions agropédoclimatiques de notre site i) aucun effet délétère n'est observé sur l'activité phosphatase suite à l'application des cendres, ii) la dose de  $1 \text{ t ha}^{-1}$  de cendres de *Miscanthus* a un effet positif sur la production de cette enzyme. La cendre de *Miscanthus* pourrait donc avoir un effet hormétique avec une stimulation de la production de phosphatase et de  $\beta$ -glucosidase à faibles doses, l'hormésis étant caractérisé par une stimulation ou un effet bénéfique à faible dose et un effet inhibiteur ou toxique à forte dose, des doses qui seraient donc supérieures à celles appliquées dans notre étude.

**L'arylamidase et l'uréase** n'ont pas été influencées par les traitements de cendres de *Miscanthus*. Ce résultat contraste avec les résultats de Zimmermann et Frey (2002) qui ont observé une stimulation des enzymes liée au cycle de l'azote, telle l'uréase qui a augmenté de 30%, plus d'un an après l'apport de  $8 \text{ t ha}^{-1}$  de cendres de bois. Cependant, les auteurs ont effectué leur étude sur un sol de forêt acide, ce qui explique peut-être la différence avec nos résultats obtenus sur un sol basique. Par ailleurs, des résultats contradictoires sont aussi observés dans la littérature. Ainsi, Odlare et Pell (2009) ont enregistré une diminution du taux de dénitrification potentielle 90 jours après l'apport de  $6 \text{ t ha}^{-1}$  de cendres volantes de bois sur sol acide ; le ralentissement des flux de transformation liés au cycle de l'azote après l'apport de cendres a aussi été observé par Pukalchik et al (2018) qui mettent en évidence une diminution de l'activité uréase dès 30 jours après l'apport de  $33 \text{ t ha}^{-1}$  de cendres de bois.

Comme pour l'uréase et l'arylamidase, la **déshydrogénase** n'a pas été impactée par l'apport de cendres de *Miscanthus*, quelle que soit la quantité de cendres apportées, même à des doses de 5 t ha<sup>-1</sup>. Ce résultat est cohérent avec celui de Mercl et al. (2020) qui n'ont pas observé d'effet sur la déshydrogénase plus d'un mois après l'apport de 7 t ha<sup>-1</sup> de cendres de bois. Il est reconnu que cette enzyme augmente avec la population microbienne suite à l'apport d'amendements et de nutriments (Pichtel and Hayes, 1990). Dans notre étude, l'absence d'effet des doses de cendres de *Miscanthus* sur cette enzyme 1 an après l'épandage est donc cohérente avec le fait qu'il n'y a pas eu d'augmentation de la biomasse microbienne.

Les enzymes hydrolytiques évaluées dans notre étude fournissent un aperçu du potentiel de minéralisation du carbone ( $\beta$ -glucosidase, déshydrogénase), et des nutriments N (uréase, arylamidase) et P (phosphatase), et peuvent être utilisées comme indicateurs précoces des changements de la qualité du sol (Karaca et al., 2010). Bien que la littérature rapporte qu'à forte doses et à court terme, la cendre puisse entraver la minéralisation du carbone et le cycle des nutriments (Pichtel and Hayes, 1990), cet effet délétère n'a pas été observé dans notre étude, aux doses de cendres de *Miscanthus* étudiées, mettant même en évidence un effet positif des cendres apportées à hauteur de 1 t ha<sup>-1</sup> pour la  $\beta$ -glucosidase et la phosphatase.

#### **Communautés lombriciennes**

Les résultats des communautés lombriciennes ont été comparés avec les résultats obtenus dans le cadre du projet bioindicateur 2 de l'ADEME sur 84 sites cultivés français (<https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur>), ainsi qu'avec les résultats obtenus dans le cadre du projet RMQS-BioDiv (Cluzeau et al., 2012), quand cela était possible. Cependant, comme expliqué dans le chapitre 2.2, les méthodes d'échantillonnage du projet Bioindicateur de l'ADEME et du RMQS-biodiv étant différentes de la nôtre, il a été décidé d'utiliser aussi les valeurs obtenues par l'Observatoire Participatif des Vers de Terre (OPVT [https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/OPVT\\_accueil.php](https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/OPVT_accueil.php), ressources personnelles non publiées) pour les sites cultivés français, dont la méthode est similaire à la nôtre.

Les abondances lombriciennes totales sont en moyenne 246% (mars) et 223% (octobre) supérieures à la moyenne française sur site cultivé qui est de  $144 \pm 109$  ind m<sup>-2</sup> (projet Bioindicateur de l'ADEME). En outre, dans l'ensemble des traitements, les résultats sont aussi plus de deux fois supérieurs à l'abondance moyenne de 215 ind m<sup>-2</sup> suggérée par Cluzeau et al (Cluzeau et al., 2012) ainsi qu'à l'abondance moyenne de 206 ind m<sup>-2</sup> suggérée par l'OPVT. De la même manière, les biomasses lombriciennes totales sont en moyenne, pour l'ensemble des traitements, 105% (mars) et 84%

(octobre) supérieures à la moyenne française sur site cultivé de  $67.5 \pm 63.5 \text{ g m}^{-2}$  (projet Bioindicateur de l'ADEME).

Concernant les catégories écologiques, les espèces endogées ont l'abondance la plus importante avec des valeurs qui sont en moyenne 481% (mars) et 370% (octobre) supérieures aux valeurs de référence pour cette catégorie écologique qui est de  $64 \pm 78 \text{ ind m}^{-2}$  d'après le projet Bioindicateur de l'ADEME. Ces résultats sont aussi supérieurs à l'abondance des endogés proposée par l'OPVT qui est de  $98 \text{ ind m}^{-2}$ . Dans le même sens, les abondances des anéciques (regroupant les anéciques stricts et les épi-anéciques) sont au minimum de  $103 \pm 43 \text{ ind m}^{-2}$  en mars dans le traitement  $1 \text{ t ha}^{-1}$  et de  $139 \pm 59 \text{ ind m}^{-2}$  dans le traitement  $2.5 \text{ t ha}^{-1}$  en octobre. Les abondances des anéciques (regroupant anéciques stricts et épi-anéciques) aux deux périodes d'échantillonnage sont donc supérieures à la valeur de référence de  $65 \pm 62 \text{ ind m}^{-2}$  (projet Bioindicateur de l'ADEME) sur site cultivé ainsi qu'à l'abondance moyenne de  $81 \text{ ind m}^{-2}$  enregistrée par l'OPVT. À l'inverse, les abondances de la catégorie épigée, représentée principalement par l'espèce *L. castaneus*, sont 80% inférieures en mars à la valeur de référence sur site cultivé ( $15 \pm 25 \text{ ind m}^{-2}$ , projet Bioindicateur de l'ADEME), excepté pour le traitement contrôle du mois de mars dont la valeur est proche des valeurs de référence ( $12 \pm 28 \text{ ind m}^{-2}$ , tableau 26). Les richesses spécifiques et les indices d'équitabilité étaient proches des valeurs de référence qui sont  $4 \pm 2$  espèces et 0.63 respectivement sur site cultivé (projet Bioindicateur de l'ADEME). En outre, nos résultats étaient supérieurs à ceux proposés par l'OPVT pour la richesse spécifique (3.7 espèces) et l'indice d'équitabilité (0.73). De la même manière, les indices de diversité de Shannon de l'ensemble des traitements étaient supérieurs à la valeur de référence de  $0.96 \pm 0.55$  proposée par le projet Bioindicateur de l'ADEME ainsi qu'à la valeur de l'OPVT (1.17). Au regard des résultats obtenus dans le traitement contrôle, la comparaison avec les valeurs des projets Bioindicateur de l'ADEME, RMQS-biodiv et OPVT, révèle donc un bon développement des communautés lombriciennes sur cette parcelle.

Dans l'ensemble des traitements et aux deux dates d'échantillonnages, les abondances totales, les abondances des catégories écologiques et la biomasse des communautés lombriciennes n'ont pas été significativement influencées par les traitements de cendres de *Miscanthus*. De la même manière, aucune modification de la richesse spécifique et des indices d'équitabilité et de Shannon n'a été enregistrée entre traitements aux deux dates d'échantillonnages. L'absence d'effet des traitements de cendres de *Miscanthus* va dans le sens des résultats obtenus en laboratoire (chapitre 3.1 et 3.2) avec l'espèce endogée *A. caliginosa*, suite aux tests de survie, croissance, reproduction et évitement dans lesquels aucun effet n'avait été enregistré suite à un apport de cendres atteignant  $25 \text{ t ha}^{-1}$ . Ces résultats vont aussi dans le sens de ceux de Mc Tavish et al., (2020b). En effet, alors que les auteurs enregistrent une légère diminution de l'abondance lombricienne 3 semaines après l'apport de cendres,

leurs résultats révèlent aussi une absence d'effet, voire dans certains cas un très léger effet positif un an après l'apport de cendres de bois sur des sols forestier acides. Alors que l'effet négatif à court terme de la cendre serait causé par une augmentation rapide et transitoire du pH, de la conductivité électrique et de la teneur en métaux, les auteurs indiquent que l'effet positif à long terme de la cendre sur les populations lombriciennes serait dû à l'augmentation de pH d'un sol initialement acide, à l'accélération de la décomposition de la matière organique du sol ou à l'augmentation de la rétention en eau du sol. Mortensen et al. (2020) ont aussi enregistré un effet bénéfique deux ans après l'apport de 6 t ha<sup>-1</sup> de cendres de bois sur un sol forestier acide. Ils suggèrent également que ces résultats seraient dus à une augmentation du pH. La variation de pH semble donc être l'un des principaux facteurs affectant les communautés lombriciennes suite à l'apport de cendres de biomasse. Dans le cas de notre étude, les cendres de *Miscanthus* ayant été apportées sur un sol déjà basique et ayant contribué seulement à une très légère augmentation du pH (0.2 unités) dans le traitement 5 t ha<sup>-1</sup> après 5 mois, il n'est pas surprenant que ces doses de cendres n'aient eu aucun effet sur les communautés lombriciennes.

Il est néanmoins nécessaire de rester vigilant quant à l'impact des cendres sur les communautés lombriciennes qui auraient pu être altérées dans un contexte pédoclimatique différent. En effet, le pH est l'un des principaux facteurs affectant l'abondance et la distribution des lombriciens. Un pH proche de 7 est optimal pour de nombreuses espèces, bien que les gammes de tolérance au pH varient d'une espèce à l'autre (Edwards and Bohlen, 1996). Il existe des différences importantes de préférences de pH entre espèces. Certaines tolèrent des pH très acides, particulièrement les épigés (Curry, 2004), alors que d'autres préfèrent des pH légèrement basiques autour de 8 (Butt and Briones, 2017). Cependant, la majorité des espèces en climat tempéré sont retrouvées dans une gamme de pH comprise entre 5 et 7.4 (Curry, 2004). Une augmentation brutale du pH pourrait donc être un facteur de stress pour les communautés lombriciennes. Par ailleurs, d'autres propriétés du sol peuvent être modifiées suite à l'apport de doses élevées de cendres (Demeyer et al., 2001) pouvant conduire à un effet délétère sur les communautés lombriciennes. C'est le cas par exemple de la teneur en ETM (Spurgeon et al., 2003), de la texture du sol (Lapied et al., 2009; Singh, 2018), ou de la salinité (Owojori et al., 2009). Notre étude montre qu'aux doses appliquées sur le cycle cultural, la cendre de *Miscanthus* n'a pas modifié suffisamment ces propriétés pour avoir un impact sur les communautés lombriciennes. Cela étant, bien que les différences n'étaient pas significatives, notre étude a souligné quelques tendances, avec notamment une diminution des épigés et épi-anéciques avec l'apport de cendres 5 mois après l'épandage, qui continue après 12 mois pour les épi-anéciques.

L'absence de différences significatives pourrait également être mise en relation avec le fait qu'au regard des valeurs de référence, et excepté pour la catégorie épigée dont la faible abondance est

### Chapitre 3.3

cohérente avec l'absence de litière en surface du sol (Singh, 2018), nos résultats révèlent un bon développement des communautés lombriciennes. En effet, les quantités suffisantes de nourriture, telle que la matière organique (issue des résidus de culture et de l'apport de compost) (Lapied et al., 2009) associée aux teneurs élevées en biomasse microbienne (Curry, 2004) permettant de fournir suffisamment d'énergie aux lombriciens, contrebalanceraient les effets potentiellement négatifs des apports de cendres. Par ailleurs, l'absence de labour (uniquement un hersage dans les 10 premiers cm du sol) (Chan, 2001; Kuntz et al., 2013) associée à une texture limono-argileuse (Baker et al., 1998; Lapied et al., 2009; Singh, 2018), à un pH légèrement basique (8.1) (Curry, 2004; Potthoff et al., 2008) ainsi qu'à l'absence de contamination en ETM permet au sol de jouer son rôle d'habitat pour les catégories endogées et anéciques.

Dans le contexte pédoclimatique de notre site d'étude, et au regard de l'usage des sols ainsi que des propriétés chimiques des cendres apportées, notre étude montre que les apports de cendres de *Miscanthus* compris entre 1 et 5 t ha<sup>-1</sup> permettent le maintien des communautés lombriciennes. Ces apports n'empêchent donc pas les communautés lombriciennes de contribuer aux services écosystémiques qui leur sont associés (Blouin et al., 2013), renforçant le rôle à jouer dans l'efficacité de la fertilisation par les cendres. En effet, Mc Tavish et al. (2020a) ont mis en évidence que les anéciques faciliteraient le mélange des cendres avec le sol en créant des terriers à travers lesquels les cendres pourraient être transportées par l'eau ou en enterrant de la litière couverte de cendres. De plus, Muir et al. (2007) ont montré que la présence de lombriciens suite à l'apport de cendres augmente la teneur en phosphore soluble du sol, en raison de la présence de populations bactériennes dans leur intestin solubilisant le phosphore.

## 4.3 Effet des cendres de *Miscanthus* sur les propriétés physiques du sol

### Densité apparente

La densité apparente dans l'ensemble des traitements est inférieure à la valeur seuil de  $1.45 \text{ g cm}^{-3}$  suggérée par Roger-Estrade et al. (2011), au-dessus de laquelle la croissance et le développement du blé sont altérés dans les sols de limon argileux.

Bien qu'aucun des traitements de cendres ne soit significativement différent du contrôle, les résultats révèlent que 5 mois après l'épandage des cendres, la densité apparente du traitement  $5 \text{ t ha}^{-1}$  est significativement inférieure à celle du traitement  $1 \text{ t ha}^{-1}$ . Même si elle est faible (4%), cette différence suggère qu'à des doses plus élevées, la cendre pourrait favoriser la diminution de la densité apparente du sol. Par ailleurs, les doses de cendres sont corrélées négativement à la densité apparente du sol. Ces résultats sont cohérents avec le fait que la densité apparente des cendres épandues est inférieure à celle du sol ( $0.56 \text{ g cm}^{-3}$ ). Le fait que la corrélation négative entre la densité apparente et la teneur en cendres ne soit plus visible après 12 mois dans les 10 premiers cm du sol pourrait être causé par une migration de la cendre dans les couches plus profondes, notamment à travers l'action des lombriciens (McTavish et al., 2020). De plus, depuis le hersage en octobre 2018 au moment des semis, aucun travail du sol n'a eu lieu contrairement aux années précédentes où un déchaumage est généralement effectué entre août et septembre. L'absence de déchaumage contribuant à la création de porosité associée au passage d'engins agricoles favorisant le tassement, notamment au moment de la récolte (Roger-Estrade et al., 2011), pourrait conduire à une compaction du sol expliquant la légère augmentation de densité apparente entre mars et octobre dans l'ensemble des traitements. L'absence d'effet des cendres sur la densité apparente après 12 mois est cohérente avec les résultats de Moragues-Saitua et al. (2017), qui n'enregistrent pas d'effet de la cendre de bois sur la densité apparente du sol 15 mois après l'apport de  $9 \text{ t ha}^{-1}$  sur un sol limono-sableux.

Nos résultats suggèrent donc que des apports plus importants en cendres de *Miscanthus* pourraient diminuer, au moins de manière transitoire, la densité apparente. L'épandage de cendres de *Miscanthus* permettrait ainsi de réduire le tassement du sol, lequel entraîne une augmentation des risques de lessivage des nitrates, d'émission de  $\text{N}_2\text{O}$ , de ruissellement et d'érosion des sols, ce qui concerne 4% des terres en Europe (GIS Sol, 2011).

#### **Stabilité structurale**

Les résultats du test de réhumectation lente révèlent qu'aux deux périodes d'échantillonnage, le sol du traitement contrôle appartient à la catégorie instable, ce qui signifie que ce sol a un risque fréquent de battance associé à un risque de ruissellement et d'érosion diffuse en cas de pluie modérée (Le Bissonnais, 1996). Les résultats du test de réhumectation rapide dans le traitement contrôle révèlent que le sol appartient à la catégorie très instable ( $MWD < 0.4$ ), ce qui signifie que la battance et le ruissellement sont systématiques en cas d'évènement pluvieux intense (Le Bissonnais, 1996). La stabilité structurale du sol de ce site est donc faible.

Concernant l'effet des cendres de *Miscanthus* sur la stabilité des agrégats après réhumectation lente, le MWD était supérieur de 31% dans le traitement 5 t ha<sup>-1</sup> par rapport au traitement contrôle, 5 mois après l'épandage des cendres. Cette différence était de 21% 12 mois après l'épandage des cendres. L'apport de 5 t ha<sup>-1</sup> de cendres de *Miscanthus* a donc permis de faire passer la structure du sol après humectation lente de la catégorie instable ( $0.4 < MWD < 0.8$ ) à stable ( $0.8 < MWD < 1.3$ ) (Le Bissonnais, 1996), et cela de manière durable, alors qu'aucun effet significatif n'a été enregistré avec les autres traitements qui étaient tous compris dans la catégorie instable. De plus, la stabilité structurale du sol après humectation lente (figure 11) est corrélée positivement à la teneur en cendres jusqu'à 12 mois après leur épandage. Cette augmentation durable du MWD sous humectation lente est cohérente avec les résultats de Moragues-Saitua et al. (2017) qui ont enregistré une augmentation du MWD d'un sol limono-sableux, 24 mois après l'apport de 9 t ha<sup>-1</sup> de cendres de bois.

Bien qu'aucune différence de MWD n'ait été observée entre traitements après humectation rapide ( $p > 0.05$ ) aux deux dates d'échantillonnage, une augmentation moyenne de 100 % du MWD a été enregistrée entre mai et octobre. Le sol prélevé au mois de mai appartenait à la catégorie « très instable » dans l'ensemble des traitements ( $MWD < 0.4$ ) alors qu'il était dans la catégorie « instable » pour l'ensemble des traitements en octobre ( $0.4 < MWD < 0.8$ ). Malgré des humidités similaires au moment des prélèvements ( $26 \pm 2\%$  en mars et  $25 \pm 4\%$  en octobre), la pluviométrie plus faible cette année peut suggérer un dessèchement du sol ayant entraîné une augmentation de la stabilité structurale, comme le suggère l'étude de Bottinelli et al. (2017).

La caractéristique principale qui influence la stabilité structurale des sols de grandes cultures est la teneur en matière organique (Le Bissonnais and Le Souder, 1995, Giannitsopoulos et al., 2020). Elle contient notamment les champignons ainsi que des micro-organismes qui sécrètent des polysaccharides extracellulaires favorisant la stabilisation des agrégats (Chenu and Cosentino, 2011). L'augmentation de l'agrégation du sol est généralement corrélée à la composition (Duchicela et al.,



2013) et à la diversité (Lehmann and Rillig, 2015) des communautés fongiques du sol ainsi qu'à la quantité de biomasse microbienne (Le Guillou et al., 2012). De plus, la teneur en polysaccharide microbien joue un rôle sur l'agrégation à long terme (Le Guillou et al., 2012). Comme les processus d'agrégation du sol sont des événements qui ont lieu sur des temps plus longs que les changements microbiologiques et biochimiques (Karaca et al., 2010), il est très probable que cette augmentation du MWD après humectation lente découle d'une modification microbiologique antérieure ayant eu lieu dans les semaines suivant l'épandage suite, par exemple, à un changement brutal de pH. En effet, Abiven et al. (2007) ont mis en évidence que la stabilité structurale soumise à l'humectation lente suit la même dynamique que la minéralisation du C et est corrélée avec la concentration en polysaccharide, alors que l'augmentation transitoire de la stabilité structurale après humectation rapide serait plutôt influencée par la longueur des hyphes mycéliens. Comme nos résultats révèlent un effet des traitements uniquement sur la stabilité structurale après humectation lente et non après humectation rapide, on peut supposer que la cendre aurait principalement un effet sur les bactéries du sol plutôt que sur les champignons. Cependant, les résultats ne révèlent pas de corrélation entre la stabilité des agrégats et la biomasse microbienne, contrairement à ce qui est généralement observé (Le Guillou et al., 2012). Néanmoins, bien qu'aucune modification de biomasse microbienne n'ait été enregistrée aux deux dates d'échantillonnage, l'augmentation de stabilité des agrégats suite à l'apport de cendres va dans le sens d'un effet des cendres sur les communautés microbiennes. De plus, les teneurs en phosphore élevées, y compris dans le contrôle, sont défavorables au développement des mycorhizes (Warnock et al., 2010). Ainsi, plusieurs autres mécanismes pourraient être avancés pour expliquer cette augmentation de la résistance des agrégats :

- (1) L'apport de cendres de biomasse sur le sol conduit à une augmentation de la conductivité électrique et de la salinité (Demeyer et al., 2001), ce qui peut entraîner un stress osmotique. Ghosh et al. (2019) ont révélé que le stress osmotique pouvait conduire à une augmentation de la production des polysaccharides extracellulaires chez certaines bactéries du sol et certains auteurs ont mis en évidence que la sécrétion de polymères extracellulaires microbiens était l'un des mécanismes impliqués dans la résistance au stress salin (Costa et al., 2018, Upadhyay et al., 2011). La production de polysaccharides extracellulaires, favorisant la stabilité des agrégats, pourrait être l'une des réponses des communautés microbiennes à un stress osmotique induit par l'apport de cendres.
- (2) La cendre de *Miscanthus* apportée est constituée de près de 10% de calcium ( $98.9 \text{ g kg}^{-1}$ , tableau 8) et de 1% de magnésium ( $8.8 \text{ g kg}^{-1}$ , tableau 8). L'apport de ces deux électrolytes favorisent la floculation des argiles (Amézketa and Aragüés Lafarga, 1995) en faisant baisser le taux d'absorption du sodium qui favorise le gonflement et la dispersion des argiles et

l'éclatement des agrégats instables (Amezketta, 1999). Bien qu'aucune différence significative des teneurs en calcium et magnésium n'ait été enregistrée entre les traitements, les teneurs en calcium du sol révèlent une tendance à l'augmentation de cet élément avec une concentration 10% plus élevée dans le sol du traitement 5 t ha<sup>-1</sup> par rapport au contrôle. Cette légère augmentation du calcium a peut-être contribué à diminuer la dispersion des argiles et a ainsi favorisé la stabilité des agrégats. Cette réaction étant probablement très légère, au regard de la faible augmentation du calcium, il n'est pas surprenant que seul le test de réhumectation lente ait permis de l'identifier. En effet, le test de réhumectation lente permet d'identifier les sols faiblement agrégés contrairement au test de réhumectation rapide dont le traitement, plus destructif, favorise la dégradation des agrégats (Le Bissonnais, 1996).

Sur la parcelle d'étude, un apport de seulement 5 t ha<sup>-1</sup> de cendres de *Miscanthus* a donc favorisé la stabilité des agrégats de manière durable. D'autres études sont nécessaires afin de comprendre les processus impliqués dans cette amélioration, notamment ceux relatifs à l'effet potentiel des électrolytes présents dans les cendres.

## 4.4 Effet des cendres de *Miscanthus* sur le blé

### **Effet des cendres de *Miscanthus* sur le rendement en blé**

Les apports de cendres de *Miscanthus* n'ont pas eu d'effet sur l'ensemble des paramètres du blé étudiés. Les rendements en grains dans l'ensemble des traitements étaient supérieurs en moyenne de 5% au rendement en grains de l'ensemble de la parcelle Vieille Maison. Cette différence peut être due à l'hétérogénéité de la parcelle. Par ailleurs, le rendement de la parcelle Vieille Maison et celui obtenu dans les traitements de cendres de *Miscanthus* sont supérieurs au rendement national moyen en blé tendre d'hiver pour l'année 2019 qui est de 7.86 t ha<sup>-1</sup> (Pognat, 2019b). Par ailleurs, les poids de mille grains dans l'ensemble des traitements sont en moyenne inférieurs de 12% aux résultats obtenus par la chambre d'agriculture (Huet et al., 2018) compris entre 44 et 46 g pour la variété Syllon en 2018. Le nombre d'épis par m<sup>2</sup> dans l'ensemble des traitements est supérieur aux valeurs obtenues par la chambre d'agriculture pour la variété Syllon et comprises entre 500 et 550 épis m<sup>-2</sup> (Huet et al., 2018). Les paramètres du blé étudiés ont donc des résultats situés autour des valeurs nationales de référence

pour l'ensemble des traitements, ce qui est cohérent avec les résultats des composantes chimique, biologique et physique du sol.

Dans notre étude, l'absence d'effet de la cendre de *Miscanthus* sur le rendement en blé est cohérente avec le fait que le pH du sol était déjà supérieur au pH optimal de 7.5 recommandé par Obriot et al. (2016) pour les cultures et que les teneurs en micro et macroéléments du sol étaient supérieures au « seuil de non réponse » au-dessus duquel l'offre en éléments ne contribue plus qu'à du prélèvement dit « de luxe » car sans bénéfique pour le rendement (Denoroy et al., 2019). Ces résultats sont similaires à ceux de Cruz-Parades et al. (2017) qui n'ont pas observé d'effet positif d'un apport de cendres de bois compris entre 2 et 25 t ha<sup>-1</sup> sur le rendement d'une culture d'orge, en raison des teneurs en P et K déjà élevées dans le sol. Dans le même sens, Reed et al. (2017) n'ont pas observé d'augmentation du rendement d'une prairie suite à l'apport de 0.6 t ha<sup>-1</sup> de cendres de bois.

Cependant, au regard de l'effet des cendres de *Miscanthus* sur la teneur en P et K et l'absence d'augmentation en ETM, il est très probable que sur un sol de moins bonne qualité (acide, pauvre en nutriments...), la cendre aurait eu un effet positif sur le rendement en blé. En effet, de nombreux travaux ont mis en évidence que l'apport de cendres de biomasse pouvait impacter positivement le rendement (Demeyer et al., 2001; Etiegni et al., 1990; Ocheцова et al., 2014) via notamment l'apport en P et K disponibles pour les plantes (Erich, 1991) impliqués dans l'amélioration du rendement en grains du blé (Duncan et al., 2018). En effet, Krejzl et Scanlon (1996) ont mis en évidence une augmentation des rendements en haricot (*Phaseolus vulgaris* L., var. blue pole), en avoine (*Avena sativa*) après des apports de cendres de bois sur sol acide. Etiegni et al. (1990) ont enregistré une augmentation de rendement en biomasse du blé d'hiver suite à l'apport de cendres de bois. Par ailleurs, cet effet positif des cendres sur le rendement serait supérieur lorsque l'apport de cendres est associé à un apport d'azote (Mercl et al., 2016). C'est ce qui a été observé par Patterson et al. (2004) qui ont enregistré une augmentation du rendement des grains d'orge (*Hordeum vulgare* L.) suite à l'apport de cendres de bois associé à des apports d'azote sur des sols acides, alors que l'effet positif des cendres n'était pas enregistré lorsque qu'il n'y avait pas d'apport d'azote. Par ailleurs, le milieu récepteur des cendres, tel que le type de sol, jouerait aussi un rôle dans l'effet des cendres sur le rendement (Jagodzinski et al., 2018). L'importance du sol sur le rendement suite à l'apport de cendres a été mise en évidence par Mercl et al. (2016) qui ont observé une diminution du rendement en grains de blé suite à l'apport de cendres de bois et de paille sur un Cambisol, alors que ces mêmes traitements ont conduit à une augmentation du rendement sur un Fluvisol. Les auteurs indiquent que ces résultats pourraient être dûs à l'immobilisation de l'azote par la cendre qui impacterait négativement le rendement des plantes dans les sols ayant de plus faibles teneurs en azote, tel que le Cambisol de cette étude. Dans le même sens, Ocheцова et al. (2014) ont enregistré une augmentation du rendement en

grains de blé de 23% dans un Fluvisol et de 7% dans un Cambisol par rapport au contrôle. Bien que les résultats d'Ochecova et al. (2014) ne soient pas significatifs, ils vont dans le sens d'un effet du sol sur l'impact des cendres sur les plantes. Cependant, des études complémentaires sont nécessaires sur des sols ayant des textures, pH et niveaux de contamination différents, afin de s'assurer de l'innocuité des cendres, sachant que le sol sur lequel la cendre est épandue, détermine l'équilibre entre la toxicité et l'amélioration de la croissance des plantes (Jagodzinski et al., 2018).

L'apport de cendres augmente le pH, ce qui diminue la disponibilité de certains métaux tels que Cd, Pb et Zn (Qasim, 2015). Cependant, bien que ce ne soit pas le cas dans notre étude, il est nécessaire de rester vigilant car de nombreux facteurs peuvent faire varier les teneurs en métaux présents dans les cendres qui, à partir de certaines concentrations, pourraient impacter négativement le rendement des plantes. L'étude de Jones et Quilliam (2014) a d'ailleurs révélé une diminution de la croissance des racines de blé tendre (*Triticum aestivum*) suite à l'apport de 5 t ha<sup>-1</sup> de cendres de bois contaminées en Cu, conduisant à des doses de Cu dans le sol atteignant 252 mg kg<sup>-1</sup>. Toutefois, ce risque semble faible dans le cas des cendres de *Miscanthus* au regard du transfert relativement faible des métaux dans la partie aérienne du *Miscanthus* (Nsanganwimana et al., 2014), même lorsque la cendre provient de *Miscanthus* cultivé sur site pollué. En outre, les métaux ne sont pas les seuls composants des cendres pouvant impacter négativement le rendement. Une augmentation trop importante de la salinité suite à l'apport de cendres induisant un stress osmotique peut aussi affecter négativement la croissance et la biomasse des plantes (Jagodzinski et al., 2018; Mtisi and Gwenzu, 2019), ce qui n'est pas le cas dans notre étude.

#### **Effet des cendres de *Miscanthus* sur la teneur en protéines des grains de blé**

Le taux de protéines de l'ensemble des traitements est proche de la valeur moyenne de 11.5 % obtenue en 2019 en France (Pognat, 2019a). La teneur en protéines des grains de blé est l'un des principaux indicateurs de la qualité du blé. Elle est principalement impactée par l'apport d'azote (Godfrey et al., 2010). Comme il n'y a pas de N dans la cendre en raison de son oxydation pendant la combustion (Odlare and Pell, 2009), les principaux nutriments contenus dans la cendre et ayant un impact sur la teneur en protéines du blé sont le phosphore et le potassium. Associés à l'azote, le phosphore et le potassium permettent d'éviter l'effet de dilution des protéines induit par une augmentation de rendement (Duncan et al., 2018). Les résultats n'ayant pas révélé d'augmentation des rendements en grains suite à l'apport de cendres, il n'est pas surprenant que les apports en phosphore et potassium de la cendre n'aient pas augmenté la teneur en protéines des grains.

En outre, la teneur en métaux des grains de blé est aussi l'un des facteurs cruciaux déterminant leur qualité et elle peut être impactée par le type de fertilisation (Bartóg et al., 2020). Bien que certains auteurs indiquent que l'apport de cendres ne conduise pas à une accumulation de métaux dans les plantes (Norström et al., 2012; Silva et al., 2019) ni dans les grains de blé (Stankowski et al. 2018), il faut tout de même rester vigilant. En effet, l'influence des cendres sur l'accumulation en métaux dans la plante pourrait dépendre des propriétés du sol. En outre, dans notre étude, l'augmentation du pH suite à l'apport de cendres qui est censé conduire à une diminution de la disponibilité de Cd et Pb dans le sol (Qasim, 2015), s'est révélée très faible (0.2 unité de pH dans le traitement 5 t ha<sup>-1</sup> après 5 mois). Des travaux supplémentaires devraient être effectués pour s'assurer que les teneurs en métaux n'augmentent pas dans le grain suite à l'apport de cendres de *Miscanthus*.

En résumé, le sol présente de bonnes conditions intrinsèques pour le rendement en grains, le nombre d'épis et le taux de protéines, alors que le poids de mille grains est légèrement inférieur aux valeurs de référence et l'apport de cendres de *Miscanthus* n'a eu aucun impact sur ces paramètres. Cependant, l'effet des cendres étant dépendant de nombreux facteurs, tels que le type de sol ou leur composition, des études supplémentaires dans d'autres contextes agroenvironnementaux sont nécessaires avant de recommander leur utilisation, notamment sur des sites carencés en phosphore et potassium, afin de tester si ces éléments apportés par la cendre peuvent être utilisés par les plantes en vue d'améliorer leur rendement.

## 4.5 Approche multiparamètre

Comparé au traitement contrôle, la composante agronomique du sol a diminué avec l'augmentation de l'apport de cendres de *Miscanthus*. Cette observation s'explique par le fait que les cendres ont été épandues sur un sol qui avait déjà des valeurs optimales, ou supérieures aux valeurs optimales, notamment pour le pH, le phosphore Olsen et le potassium échangeable. Les apports croissants dans les différents traitements de cendres sont corrélés positivement à ces propriétés du sol et ont conduit à leur augmentation de manière significative. Cette diminution de la qualité agronomique avec l'apport de cendres n'est donc pas surprenante. Cet effet négatif observé sur un site de bonne qualité, comme c'est le cas de notre site d'étude, pourrait à l'inverse être positif sur un site avec un pH acide et/ou carencé en phosphore et potassium. En outre, 12 mois après l'apport de cendres, c'est le traitement 1 t ha<sup>-1</sup> qui a le meilleur résultat, probablement en raison de la baisse de la teneur en phosphore disponible et potassium disponible entre mars et octobre.

### Chapitre 3.3

Les indices des métaux totaux étaient très proches entre les traitements en raison de l'absence d'effet des cendres sur cette propriété. De plus, en mars, l'indice de disponibilité des métaux était le plus élevé dans le traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup>, alors que le traitement 5 t ha<sup>-1</sup> présentait l'indice le plus faible. L'augmentation de pH dans le traitement 5 t ha<sup>-1</sup> n'a donc pas permis de diminuer la disponibilité de ces métaux, ce qui est cohérent avec le fait que cette augmentation était très faible (inférieure à 0.4 point de pH). En outre, le pH du sol étant initialement alcalin dans le contrôle, les métaux étaient probablement déjà sous forme peu disponible au début de l'expérimentation, avant que les apports de cendres n'aient été réalisés (Truog, 1947).

Concernant la composante biologique (compartiments microbien et lombricien), après 5 mois, les meilleurs résultats en mars ont été obtenus dans les traitements contrôle et 2.5 t ha<sup>-1</sup> de cendres. L'apport de cendres n'a donc pas particulièrement eu d'effet sur cette composante après 5 mois. Après 12 mois, c'est le traitement 1 t ha<sup>-1</sup> qui présentait les meilleurs résultats pour cette composante, ce qui s'explique par les résultats d'activités enzymatiques enregistrés qui étaient aussi optimales dans le traitement 1 t ha<sup>-1</sup>. Pour rappel, les activités enzymatiques n'ont pas été prises en compte dans le calcul des indices car elles n'ont pas été analysées en mars. L'agrégation des propriétés biologiques a donc pu confirmer que le traitement 1 t ha<sup>-1</sup> est optimal pour la composante biologique 12 mois après l'épandage des cendres, dans notre situation pédoclimatique.

Concernant la composante physique du sol, le traitement 5 t ha<sup>-1</sup> présentait les meilleurs résultats en mars et en octobre. Même si des travaux ont mis en évidence que l'augmentation de la stabilité des agrégats pouvait être associée à la présence de lombriciens (Giannitsopoulos et al 2019, Hallam et Hodson et al 2020) ou de champignons (Chenu and Cosentino, 2011), dans notre étude, il semble plus probable que cet effet positif soit dû à un stress osmotique des bactéries ainsi qu'à la floculation des argiles suite à l'apport d'électrolytes. Concernant la densité apparente, même si aucune différence n'a été enregistrée par comparaison avec le traitement contrôle, la corrélation négative entre la dose de cendres et la densité apparente permet de supposer qu'à des doses plus importantes, la cendre de *Miscanthus* pourrait favoriser la diminution de cette propriété et donc l'augmentation de la porosité du sol. Il faudrait en revanche vérifier que ces doses plus importantes n'aient pas d'effet indésirable sur les autres composantes du sol. En résumé, au printemps, pendant la croissance du blé, nous pouvons considérer que l'apport de 5 t ha<sup>-1</sup> de cendres serait le bon compromis puisque cette dose est bénéfique à la composante physique du sol sans engendrer d'effet négatif sur les composantes chimiques et biologiques. Il n'y a plus réellement d'effet des doses d'apport de cendres en octobre après la récolte du blé.

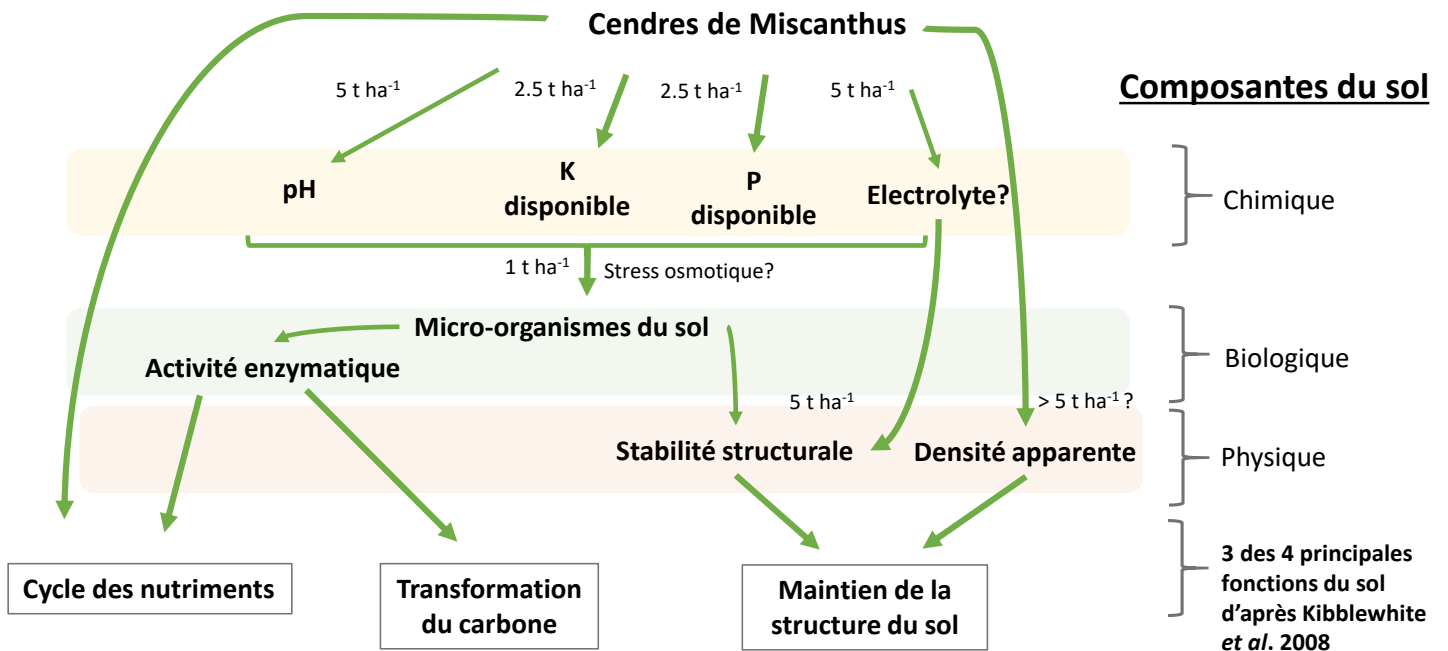


Figure 35 : Schéma conceptuel des effets bénéfiques des cendres sur la qualité du sol.

## 5. Conclusion et perspectives

Les résultats de cette première étude portant sur l'effet des cendres de Miscanthus sur la qualité d'un sol cultivé en blé, présentant une texture limono-argileuse, ayant une teneur en matière organique faible et des valeurs de pH, phosphore et potassium relativement élevées, et compte tenu des caractéristiques chimiques des cendres appliquées, n'ont pas révélé d'effet négatif des cendres sur les propriétés étudiées. En outre, ils ont mis en évidence des améliorations de la composante biologique du sol après un an dans le traitement 1 t ha<sup>-1</sup>, notamment via l'augmentation des activités enzymatiques. Cet effet bénéfique de la composante biologique dans le traitement 1 t ha<sup>-1</sup> est associé à une relative amélioration de la composante chimique de ce même traitement, ce qui permet de supposer qu'un apport de cendres de Miscanthus sur un sol ayant des valeurs de pH, phosphore et potassium inférieures aux valeurs optimales, pourrait avoir un effet bénéfique sur la qualité du sol. De plus, la composante physique du sol a été améliorée de manière durable aux deux périodes d'échantillonnage, notamment en raison de l'augmentation de la stabilité structurale qui est probablement liée au stress osmotique subi par les bactéries ainsi qu'à l'apport d'électrolytes. Des effets bénéfiques suite à l'apport de cendres ont donc été enregistrés sur trois des quatre principales

fonctions du sol, décrites par Kibblewhite et al. (Kibblewhite et al., 2008b): (i) le cycle des nutriments, (ii) la transformation du carbone et (iii) le maintien de la structure du sol (figure 35).

Cependant, l'effet des cendres étant dépendant du milieu récepteur (Mercl et al., 2016), d'autres études sont nécessaires afin de confirmer ces effets sur d'autres types de sols (texture et pH différents). Par ailleurs, le blé n'a pas été négativement influencé par ces doses de cendres, mais il n'en est peut-être pas de même avec d'autres cultures. En outre, bien que le *Miscanthus* n'accumule que très peu les métaux dans la partie aérienne de la plante (Nsangawimana et al 2014), des cendres provenant de *Miscanthus* cultivé sur site pollué peuvent potentiellement avoir des teneurs en métaux plus élevées et donc un effet contaminant. Il faut aussi rester vigilant concernant les teneurs en ETM qui peuvent s'accumuler dans le sol d'une année sur l'autre et potentiellement conduire à une contamination après plusieurs années d'apports. Par ailleurs, maintenant que des effets bénéfiques des cendres ont été mis en évidence sur les composantes physique et biologique du sol, il est nécessaire d'étudier l'effet fertilisant des cendres en remplacement d'apport de phosphore et de potassium. La mise en place d'une étude ayant un design expérimental similaire mais sur un sol carencé en phosphore et potassium permettrait de répondre à cette question. De plus, afin de faciliter leur application, l'association des cendres mélangées à du compost pourrait être évaluée. Enfin, concernant le blé, nos travaux n'ont montré aucun effet négatif des apports de cendres sur le rendement, ni sur la teneur en protéine des grains. Des études complémentaires devraient être effectuées afin de s'assurer de la teneur en ETM dans les grains.





## Chapitre 4

### Discussion générale et conclusion



## 1. Rappel des objectifs de la thèse

L'objectif général de ce travail de recherche, qui s'inscrit dans le projet Biomass For the Future (BFF, ANR 11-BTBR-0006), est d'évaluer l'influence de la filière thermique du *Miscanthus × giganteus* sur la qualité du sol, à travers une approche multiparamètre, en prenant en compte conjointement les composantes chimique, physique et biologique du sol. L'une des originalités de cette étude réside dans l'évaluation des deux étapes de cette filière ayant une influence directe sur la qualité du sol : (1) la phase de culture et (2) la phase de retour au sol des cendres.

L'influence de la culture du *Miscanthus* sur la qualité du sol a été évaluée :

- sur deux sites marginaux en comparaison d'une zone adjacente non cultivée. Ces résultats ont été comparés à une culture de *Miscanthus* localisée sur un site agricole.
- sur un site agricole, en comparaison d'une culture annuelle de blé et d'une zone adjacente non cultivée.

L'influence d'un apport de cendres de *Miscanthus × giganteus* sur la qualité du sol, dans un contexte de fertilisation, a été évaluée par deux approches:

- des essais en laboratoire, dans lesquels l'effet des cendres sur la survie, la croissance, la reproduction et le comportement d'évitement de l'espèce lombricienne endogée *A. caliginosa* a été étudié.
- un essai agronomique, sur le terrain, au cours duquel l'effet des cendres sur la qualité du sol d'un champ de blé a été étudié via l'approche multiparamètre.

## 2. Discussion des objectifs de recherche globaux

### 2.1 Effet d'une culture de *Miscanthus* sur la qualité du sol

Les trois sites sélectionnés afin d'évaluer l'effet de la culture du *Miscanthus* sur la qualité du sol diffèrent par leurs textures de sols, leurs niveaux de contamination ainsi que par leurs historiques culturels et potentiels agronomiques. Le site de Chanteloup, qui était à l'abandon avant l'implantation

du *Miscanthus*, est pollué et a une texture limono-sableuse, alors que les sites de Marne et Gondoire et de la Bioferme ne sont pas pollués et ont une texture limono-argileuse. En outre, le site de Marne et Gondoire était une prairie non perturbée, laissée à l'abandon plus de 10 ans avant l'implantation du *Miscanthus*, alors que le site de la Bioferme est un site agricole sur lequel de l'orge était cultivé avant l'implantation du *Miscanthus*. L'évaluation multiparamètre sous culture de *Miscanthus* sur ces trois sites et la comparaison des résultats de Chanteloup et de Marne et Gondoire avec une zone adjacente non cultivée ont permis de mettre en évidence que la qualité du sol sous une culture de *Miscanthus* dépendait des propriétés du sol, du niveau de contamination ainsi que de l'historique du site.

Sur le site pollué de Chanteloup, les résultats suggèrent que le *Miscanthus* n'améliore pas la qualité du sol, avec des valeurs particulièrement faibles d'abondance lombricienne et de biomasse microbienne. Mais les tendances indiquent qu'il pourrait réduire la mobilité des éléments traces métalliques (ETM). Des études complémentaires sont nécessaires afin de confirmer ces tendances. Bien que nos résultats ne nous permettent pas de conclure, ces observations vont dans le sens des auteurs ayant mis en évidence les propriétés phytostabilisatrices du *Miscanthus* (Nsanganwimana et al., 2014, Al Souki et al., 2017, Fernando and Oliveira, 2004, Wanat et al., 2013). Al Souki et al (2017) ont, par exemple enregistré une diminution de la disponibilité du Cd et du Zn dans un sol cultivé avec du *Miscanthus* depuis 12 mois. Cependant, contrairement à notre étude, la plupart de ces travaux sont basés sur des expérimentations en pots (Al Souki et al., 2017, Pidlisnyuk et al., 2020, Barbosa et al., 2015), en phytotron (Wanat et al., 2013) ou dans les cas les plus réalistes, sur des parcelles expérimentales (Pogrzeba et al., 2011, Lord et al., 2008, Fernando et al., 2004). A notre connaissance, la seule étude ayant évalué l'effet du *Miscanthus* sur la mobilité des métaux directement sur site pollué est celle du projet PHYTENER (Bidar et al., 2015, Nsanganwimana et al., 2015) qui met en évidence une réduction de la mobilité du Cd, Pb et Zn seulement la première année d'implantation du *Miscanthus*, alors qu'aucun effet n'est enregistré les deux années suivantes. Le contraste entre les résultats en conditions contrôlées et les résultats obtenus sur le terrain confirme la nécessité d'affiner les connaissances sur les conditions favorisant la réduction de la disponibilité des métaux, notamment en conditions réelles. Dans le cas de notre étude, bien que notre dispositif expérimental permette l'acquisition de données en conditions réelles, il ne nous a pas permis de répondre à cette question en raison d'un nombre insuffisant de répétitions associé à l'absence d'analyse avant la mise en place de la culture de *Miscanthus*.

La culture du *Miscanthus* sur sites marginaux pollués en ETM a pour premier objectif la phytostabilisation des contaminants. Cependant, un rendement suffisant, permettant une durabilité économique aux agriculteurs, est aussi indispensable afin de permettre à la filière *Miscanthus* de se développer sur ce type de site. Or, sur le site de Chanteloup, le rendement du *Miscanthus*  $\times$  *giganteus*

entre 2014 et 2019 était inférieur à  $5 \text{ t ha}^{-1}$  (Ouattara et al., 2020). Ce rendement est particulièrement faible et ne permettait pas à l'agriculteur d'effectuer une récolte chaque année (communication personnelle de la part de l'agriculteur). Cette faible production de biomasse sur site pollué est cohérente avec les résultats des travaux de Wanat et al (2013) et Barbosa et al (2015) qui enregistrent une réduction du rendement en *Miscanthus* dans des sols contaminés aux ETM. D'après Kabata-Pendias et al. (2011), cet effet serait dû à des altérations du processus de photosynthèse et des organes souterrains liées à la présence de métaux en excès dans le sol tels que le zinc, le chrome et le plomb, entraînant un retard de croissance de la plante entière. Les travaux de Fernando et al (2004) ont, quant à eux, enregistré une production de biomasse supérieure à  $20 \text{ t ha}^{-1}$  après l'apport de plus de  $50 \text{ t ha}^{-1}$  de boues contaminées sur une parcelle expérimentale de *Miscanthus × giganteus*. Ces résultats élevés de biomasse enregistrés par Fernando et al (2004) peuvent s'expliquer par le fait que le *Miscanthus* a été implanté sur un sol non contaminé et n'a reçu les épandages de boues contaminées que quatre ans après son implantation, c'est-à-dire presque à la fin de la période d'établissement de la culture qui dure entre 3 et 5 ans (Lewandowski et al., 2003), alors que, dans notre étude, les rhizomes ont été implantés directement dans le sol contaminé, ce qui a pu induire un stress réduisant leur croissance. De plus, dans notre étude, les teneurs en Cd, Cu, Ni, Pb, Zn et Cr sont 885%, 106%, 116%, 528%, 9% et 105% supérieures aux concentrations enregistrées dans les boues épandues par Fernando et al (2004). En outre, Fernando et al. (2004) ont fait des apports d'azote, de phosphore et de potassium et ont irrigué leurs parcelles en eau tous les jours pendant la phase de croissance, afin d'éviter le stress hydrique, ce qui n'a pas été le cas dans notre étude. Tous ces facteurs (l'implantation sur un site non contaminé, les teneurs en métaux inférieures à celles enregistrées sur notre site, les apports de N, P, K et l'irrigation) peuvent expliquer les différences de rendement enregistrées entre le site de Chanteloup et l'étude de Fernando et al. (2004). De la même manière, l'étude sur site contaminé menée dans le cadre du projet PHYTENER a permis d'observer un rendement compris entre 16 et  $23 \text{ t ha}^{-1}$  trois ans après l'implantation de *Miscanthus × giganteus* (Nsanganwimana et al., 2015). Ici aussi, la différence de rendement avec notre étude est probablement due aux différences de teneurs en métaux (Cu, Ni et Cr sont 666%, 171% et 81% supérieurs respectivement dans notre étude). D'autres facteurs sont probablement aussi responsables de ces différences de rendement entre notre étude et la littérature citée, comme par exemple la texture limono-sableuse du site de Chanteloup, plus drainante que la texture limoneuse de l'étude de Nsanganwimana et al (2015), qui peut engendrer plus régulièrement des stress hydriques (Al Majou et al., 2016) auxquels le *Miscanthus* est sensible (Clifton-Brown and Lewandowski, 2000, Clifton - Brown et al., 2001, Richter et al., 2008).

En se basant sur les travaux de Fernando et al (2004), Nsanganwimana et al (2014) suggèrent dans leur revue de littérature qu'un apport de boue ou d'eau contaminée en ETM sur une culture de *Miscanthus*

pourrait contribuer à (i) améliorer la fertilité du sol, (ii) augmenter le rendement et (iii) réduire le coût du traitement des boues contaminées. Au regard de nos résultats (chapitre 2.1) soulignant l'incertitude sur l'effet phytostabilisant et la réduction de la production de biomasse, il est nécessaire d'être très vigilant face à cette proposition d'apports de boues ou d'eaux contaminées aux ETM qui pourrait entraîner une pollution des sols et des eaux, ainsi qu'une absence de rentabilité économique pour l'agriculteur. Avant d'implanter des cultures de *Miscanthus* sur des zones contaminées ou d'irriguer les cultures avec des boues dépassant les valeurs limites en ETM, il est nécessaire de s'assurer que l'ensemble des facteurs pouvant avoir une influence sur la production de biomasse, tels que les teneurs initiales du sol en ETM, les teneurs en ETM des apports ou d'autres facteurs pédoclimatiques, sont favorables à la production de biomasse. Ces différences de résultats entre études soulignent l'importance de mettre en place des essais directement sur le terrain, qui sont complémentaires aux approches expérimentales, afin de se rendre compte de manière réaliste de l'effet d'une pratique. Il pourrait être envisagé dans le futur, d'étudier la croissance des rhizomes de *Miscanthus* dans ces conditions de sols déjà contaminés.

Au-delà du fait qu'en dessous d'un certain seuil, une production de biomasse trop faible n'est pas durable économiquement pour les agriculteurs, la réduction de la production de biomasse entraîne aussi une réduction du potentiel d'atténuation des gaz à effet de serre par la culture du *Miscanthus* (Lewandowski et al., 2018a), ce qui est aussi l'un des objectifs recherchés lors de l'implantation des cultures énergétiques. Cependant, une production de biomasse excessive suite à l'implantation du *Miscanthus* peut aussi engendrer une réduction de la qualité du sol. En effet, les travaux sur le site marginal non contaminé de Marne et Gondoire (chapitre 2.1) ont mis en évidence que le rendement sur ce site était relativement élevé, avec plus de 20 t ha<sup>-1</sup> l'année des prélèvements (Ouattara et al., 2020), sachant que le rendement moyen en France est de 10 t ha<sup>-1</sup> (Lewandowski et al., 2018a). En revanche, les composantes biologique et physique du sol présentaient de moins bons résultats dans la culture du *Miscanthus* que sur une zone adjacente non-cultivée, avec notamment un effet négatif sur l'abondance, la biomasse ainsi que sur les structures fonctionnelles et spécifiques des lombriciens. De plus, le sol était instable dans le traitement *Miscanthus* d'après la classification de Le Bissonnais (1996) et la densité apparente était supérieure au seuil de 1.4 g cm<sup>-3</sup> au-dessus duquel elle n'est plus optimale pour la croissance des plantes dans un sol limono-argileux (USDA, 2014). Ces résultats complètent ceux de Dauber et al. (2015) qui ont mis en évidence que le rendement du *Miscanthus* était associé négativement à la biodiversité et notamment à la diversité des arthropodes épigés et des plantes vasculaires. Il est donc nécessaire de trouver un compromis entre la productivité des cultures de *Miscanthus* et son effet sur la qualité du sol, notamment sur la composante biologique, sachant que les zones marginales non contaminées peuvent être des réservoirs de biodiversité. Sur ces zones,

l'implantation de cultures énergétiques a pour objectif principal la valorisation économique à travers la production de biomasse. Afin d'atteindre cet objectif sans nuire à la composante biologique du sol et à la biodiversité en général, il est peut-être nécessaire de se fixer des objectifs de rendement suffisant pour être rentable économiquement, mais en dessous d'un seuil pouvant entraîner une perte de biodiversité. Certains auteurs ont suggéré des seuils économiques du rendement en *Miscanthus* en dessous duquel sa culture n'est plus rentable (Richter et al., 2008, Styles et al., 2008). En 2008, l'équipe de Richter proposait le seuil de 9 t ha<sup>-1</sup> en Angleterre (Richter et al., 2008) et la même année, Styles et al. (2008) indiquaient que même un rendement moyen relativement faible de 11.7 t ha<sup>-1</sup> permettait le maintien d'une rentabilité économique pour les agriculteurs en Irlande. Rechercher le compromis productivité-biodiversité qui détermine le seuil de rentabilité de la culture sans préjudice pour la biodiversité, à l'échelle nationale ou régionale et en fonction du contexte pédoclimatique, doit être un préalable à la mise en place de la filière. Ces travaux pourraient fournir une gamme de rendements permettant d'atteindre ce compromis productivité-biodiversité. Les porteurs de projets des sites marginaux pourraient alors ajuster les rendements attendus en fonction de la densité des rhizomes ou avoir une influence positive sur la biodiversité, en modifiant l'organisation des cultures, sachant par exemple que les plantations de *Miscanthus* en bande en forme de « L » autour d'une prairie favoriserait l'abondance lombricienne, la présence de bourdons et de lézards (Littlejohn et al., 2019). En parallèle de toutes ces dispositions, il est cependant possible que dans les années à venir, un rendement insuffisant soit le problème majeur rencontré par les porteurs de projets. En effet, l'augmentation des sécheresses dues au changement climatique entraîne une réduction du rendement de *Miscanthus × giganteus*, et des travaux sont en cours afin de développer un génotype tolérant à ce stress (Lewandowski et al., 2016).

Sur site agricole, le principal objectif des agriculteurs reste la productivité. Le concept de qualité du sol a d'ailleurs pendant longtemps été principalement associé à sa fertilité avant la prise en compte d'autres fonctions du sol (Bünemann et al., 2018). Pour autant, des travaux ont mis en évidence que certaines pratiques agricoles, dans le but d'une productivité élevée, ne sont pas durables telles que le labour (Jat et al., 2019) ou l'utilisation excessive de certains produits phytosanitaires (Pélosi et al., 2013, Potts et al., 2010). Cette prise de conscience entraîne un changement des pratiques et a d'ailleurs conduit la PAC à encourager la culture du *Miscanthus* depuis 2018, suite à la publication de nombreux travaux mettant en évidence que cette culture favorisait la qualité du sol via notamment l'amélioration de sa structure (Das et al., 2016, Ruf et al., 2018a, Chantigny et al., 1997) ou l'abondance lombricienne (Felten and Emmerling, 2011). Cependant, à notre connaissance, aucune étude n'avait encore été menée en prenant en compte l'effet du *Miscanthus* sur la qualité du sol à travers une



évaluation conjointe de ses composantes physique, chimique et biologique sur site agricole. Les résultats obtenus sur le site agricole de la Bioferme, dans le chapitre 2.2, ont permis de mettre en évidence, via le calcul et la comparaison d'un indice agrégé de qualité du sol entre Miscanthus, une culture annuelle de blé et une zone non cultivée, que sur un site agricole non pollué, les traitements sont classés de la manière suivante en mars : blé < Miscanthus < non-cultivé, le traitement blé et Miscanthus ayant des scores relativement proches ; la seule composante du sol qui avait des résultats supérieurs dans le Miscanthus par rapport aux deux autres traitements était la composante physique, principalement du fait de valeurs plus élevées de la stabilité structurale du sol. Au mois d'octobre, les traitements étaient classés de la manière suivante : Miscanthus < blé < non-cultivé, le traitement Miscanthus ayant des résultats inférieurs aux deux autres traitements dans les catégories physique et biologique.

L'ensemble de ces résultats sur site agricole soulignent le fait que, par l'approche relative que nous avons développée (comparaison du Miscanthus vs blé ou non cultivé), l'évaluation de la qualité du sol sous culture de Miscanthus dépend de ce à quoi il est comparé. Dans l'étude du chapitre 2.2, l'agriculteur cultivant la parcelle en blé ne pratique plus le labour depuis 2013, réalise des apports de compost et il effectue un enfouissement des pailles depuis plus de 30 ans. Ces pratiques, favorables à la composante agronomique ainsi qu'à la composante biologique, expliquent les résultats relativement satisfaisants du traitement blé pour ces deux composantes par rapport au traitement Miscanthus (tableau 13, figure 17), contrairement à ce qui a pu être enregistré dans d'autres études par comparaison à des cultures annuelles conventionnelles avec labour, fertilisation minérale et exportation des pailles (Chantigny et al., 1997, Ruf et al., 2018a). Le schéma conceptuel présenté par Karlen et al. (2019), illustrant l'influence des pratiques sur la santé du sol et indiquant que les cultures en rotation sans travail du sol ont une santé inférieure aux sols sous culture énergétique pérenne, devrait évoluer en intégrant le fait que les cultures annuelles peuvent être conduites avec des pratiques conventionnelles ou agroécologiques ce qui influence la qualité des sols. L'application de pratiques culturales (réduction du travail du sol, retour au sol des matières organiques) permettant la préservation ou l'amélioration de la qualité des sols, conduit par notre approche relative à une meilleure classification de cette parcelle, vs celle en Miscanthus, autrement dit, ces pratiques conduisent à une évaluation relative de la qualité des sols moins bonne sous Miscanthus. Cependant, il est à noter que les valeurs obtenues pour l'ensemble des composantes sous Miscanthus se situent autour des valeurs de référence, et qu'aucune influence négative du Miscanthus n'a été enregistrée. De plus, un autre facteur pouvant expliquer le fait que les composantes agronomique et biologique sont inférieures sous Miscanthus par rapport au traitement blé, est l'âge de la culture. En effet, le Miscanthus n'est établi sur cette zone que depuis 5 ans, ce qui n'est probablement pas suffisant pour

voir une amélioration de la qualité du sol et notamment la teneur en  $C_{org}$  (qui fait partie de la composante agronomique), comme cela a été souligné par les travaux de Ferchaud et al. (2016) et Zimmermann et al. (2012). Il y aurait donc un réel intérêt à renouveler notre étude 10 ans après l'implantation de la culture du *Miscanthus*. En outre, notre étude a eu lieu en conditions réelles ; il faut prendre en compte le fait que sur le site de la Bioferme, et c'est probablement le cas sur d'autres sites agricoles, les gestionnaires ont choisi d'implanter les cultures de *Miscanthus* sur les parcelles ayant la productivité la plus faible. Par ailleurs, pour compléter notre approche multiparamètres, d'autres composantes pourraient être considérées. D'une part, notre approche des propriétés biologiques du sol pourrait être améliorée par la prise en compte d'autres indicateurs biologiques (nématodes, collemboles et acariens, diversité microbienne...). Par ailleurs, on sait que le *Miscanthus* peut aussi servir de refuge aux cailles, cerfs, lièvres, perdrix grises ou grands prédateurs (Emmerling and Pude, 2017), augmenter la quantité de scarabées, d'araignées (Emmerling et al., 2017) ou encore la population d'oiseaux par rapport à des cultures annuelles (Bellamy et al., 2009). Il s'agirait à la fois de prendre en compte ces autres composantes de biodiversité mais aussi, de réaliser ce type d'approche multiparamètre, à différents moments de l'année et du cycle végétatif du *Miscanthus*, car les effets positifs sur la biodiversité semblent aussi dépendre de la structure des cultures qui change au cours de l'année (Sage et al., 2010).

## 2.2 Utilisation des cendres de *Miscanthus*

### Effet sur les lombriciens en milieu contrôlé

Alors que certains travaux ont été effectués afin d'évaluer l'effet des cendres volantes de charbon sur les lombriciens dans des contextes de phytostabilisation (Grumiaux et al., 2007, Grumiaux et al., 2015, Demuyne et al., 2014), très peu d'études ont été menées sur l'effet des cendres de biomasse dans des contextes de fertilisation. Or, les cendres de charbon et de biomasse ont des caractéristiques différentes, notamment la teneur en carbone ou la distribution de la taille des particules (Yeboah et al., 2014, Jaworek et al., 2013). A notre connaissance, seules les études de Singh et al. (2017), Pukalchik et al. (2018) et McTavish et al. (2020a, 2020b), ont évalué l'effet des cendres de biomasse sur les lombriciens en conditions contrôlées, mais aucune n'a étudié l'effet des cendres de *Miscanthus*. De plus, Silva et al. (2019) ont souligné la nécessité d'évaluer l'effet des cendres de biomasse sur la reproduction et le comportement d'évitement. Le comportement d'évitement a bien été étudié par McTavish et al. (2020a, 2020b), mais uniquement sur l'espèce épi-anécique *Lumbricus terrestris*. Pour

ces raisons, il a été décidé de mettre en place des études originales permettant d'évaluer l'effet des cendres de *Miscanthus* sur les lombriciens :

- dans le chapitre 3.2, notre étude, qui porte sur l'effet des cendres sur la survie, les changements de biomasse, la reproduction et le comportement d'évitement de l'espèce *A. caliginosa* a permis de mettre en évidence que la cendre de *Miscanthus* cultivé sur site non pollué, n'avait pas d'effet délétère significatif aux doses testées (0, 1, 2.5, 5, 10 et 25 t ha<sup>-1</sup>) sur la survie, la croissance et la reproduction d'*A. caliginosa*. Après trois mois, cependant, dans le traitement 2.5 t ha<sup>-1</sup>, la biomasse tendait à diminuer. De la même manière, dans le traitement 10 t ha<sup>-1</sup> le nombre de cocons tendait à diminuer après deux mois. En outre, une réponse d'évitement significative a été observée à partir de 50 t ha<sup>-1</sup>, et le traitement 25 t ha<sup>-1</sup> présentait un effet délétère sur la fonction d'habitat du sol, sachant que plus de 80 % des vers de terre se trouvaient dans le traitement contrôle (ISO 17512-1, 2008).
- dans le chapitre 3.2, une méthodologie de test d'évitement a été améliorée en s'appuyant sur les recommandations de l'ISO 17512 et du test d'évitement linéaire développé par Lowe et al. (2016). Un dispositif circulaire (recommandé par l'ISO 17512), et sans cloison entre les traitements (comme le dispositif d'évitement linéaire développé par Lowe et al (2016)), a été mis en place. La comparaison des résultats obtenus dans ce nouveau dispositif circulaire avec ceux obtenus dans le dispositif linéaire de Lowe et al. (2016) ont mis en évidence qu'après 14 jours : (1) les individus pouvaient se déplacer le long du gradient circulaire de la même manière que dans le gradient linéaire, (2) dans les deux dispositifs, aucun comportement d'évitement n'a été enregistré avec des traitements de cendres compris entre 0 et 10 t ha<sup>-1</sup>.

Ces tendances observées à partir de 50 t ha<sup>-1</sup> peuvent être expliquées par différents facteurs tels que la présence de métaux lourds dans les cendres ainsi que la modification du pH, de la texture et/ou un stress osmotique (Qin et al., 2017, Grumiaux et al., 2007). Néanmoins, il ressort de notre étude qu'aux doses inférieures ou égales à 10 t ha<sup>-1</sup> qui pourraient être utilisées en fertilisation, la cendre n'a pas d'effet significatif sur l'espèce *A. caliginosa*.

L'espèce endogée *A. caliginosa* a été sélectionnée dans notre étude à la place des espèces épigées *E. faetida* et *E. andrei*, recommandées par les normes (ISO 17512, 2008, ISO 11268, 2012), parce que la catégorie des endogés est de plus en plus préconisée pour les essais écotoxicologiques, car ces individus vivent directement dans le sol (Bart et al., 2018, Butt and Lowe, 2011) et dominant généralement les sites cultivés (Pérès et al., 2011 ; données du projet Bioindicateur : <https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur> et données de l'OPVT). De plus, *A. caliginosa* est recommandée par de nombreux auteurs pour ce type de test car elle est représentative des champs

cultivés sous climats tempérés (Bart et al., 2019b, Bart et al., 2018). Cette espèce a d'ailleurs été enregistrée sur le site de la Bioferme suite à la campagne de 2017 (chapitre 2.1). Il est cependant nécessaire d'être vigilant face à la généralisation de ces résultats qui n'ont été obtenus que sur une espèce de la catégorie endogée et qui doivent être confirmés avec d'autres espèces de cette catégorie. En effet, au sein de la catégorie des endogés, les individus n'ont pas tous le même comportement (Bastardie et al., 2005, Le Couteux et al., 2015) et l'apport de cendres pourrait avoir un effet délétère ou stimulant sur une autre espèce endogée.

### Effet global sur la qualité du sol – approche terrain

L'effet des cendres sur le terrain a été étudié dans le chapitre 3.3. Les épandages de cendres de *Miscanthus*, à des doses comprises entre 0 et 5 t ha<sup>-1</sup>, sur un champ de blé, n'ont pas mis en évidence d'effet délétère des cendres sur la qualité du sol. De plus, des augmentations de la teneur en phosphore et du pH ont été enregistrées après cinq mois. De la même manière, une augmentation de la concentration en potassium a été enregistrée avec l'apport de cendres et cet effet était toujours visible après 12 mois. Cette étude démontre que des apports de cendres allant jusque 5 t ha<sup>-1</sup> permettraient d'améliorer la qualité d'un sol carencé en phosphore et potassium. De plus, même s'il n'a augmenté que de 0.2 point sur un sol initialement basique, l'apport de cendres de *Miscanthus* sur sol acide pourrait potentiellement conduire à une augmentation du pH. En outre, avec ces doses de cendres, aucun effet négatif sur la qualité du sol n'a été enregistré, notamment lors des comparaisons avec les valeurs de référence. Cependant, ces effets étant transitoires, il sera peut-être nécessaire d'effectuer des apports réguliers de cendres pour obtenir des valeurs optimales de phosphore, potassium et pH. Cette étude devrait alors être menée sur un sol déficitaire en phosphore et potassium et avec un pH acide. Il sera alors nécessaire d'évaluer l'effet d'une répétition de ces apports, qui pourrait conduire à une contamination en ETM. Même si dans un premier temps, les métaux pourraient être sous forme non disponible en raison de l'augmentation du pH (Truog, 1947), ces derniers pourraient se retrouver sous forme disponible si le pH du sol venait à diminuer.

Concernant les teneurs en ETM des cendres, le faible transfert des ETM dans la plante suggère que les teneurs en métaux du site sur lequel le *Miscanthus* est cultivé, ne devraient pas être un facteur majeur influençant la teneur en ETM des cendres. En effet, la plupart des travaux indiquent qu'il y a relativement peu de transfert des métaux du sol vers la partie aérienne du *Miscanthus*, sachant que le BCF (*Bioconcentration Factor*, ratio entre la teneur en ETM dans la partie aérienne de la plante et le sol) et le TF (*Translocation Factor*, ratio entre la teneur en ETM dans la partie aérienne et la partie souterraine de la plante) sont généralement inférieurs à 1 (Nsanganwimana et al., 2014). Néanmoins,

certaines études sur site contaminé, comme celle de Pogrzeba et al. (2011), révèlent que le *Miscanthus* pourrait accumuler des quantités importantes de métaux dans sa biomasse. Il est donc nécessaire de rester vigilant et d'évaluer s'il y a une différence des teneurs en ETM dans les cendres en fonction de l'origine de la biomasse et des facteurs impliqués dans leurs variations, afin de réduire le risque de contamination.

Les résultats du chapitre 3.3 ont aussi révélé une amélioration de la qualité des sols sous le traitement recevant le plus de cendres ( $5 \text{ t ha}^{-1}$ ), et ce dès les 5 premiers mois suivant l'épandage. Cette amélioration était durable dans le temps, mais limitée à la composante physique du sol, et notamment à la stabilité structurale. En outre, 12 mois après l'apport de cendres, nos travaux ont démontré que le traitement  $1 \text{ t ha}^{-1}$  était celui qui présentait les meilleurs résultats de composante agronomique (propriétés chimiques des sols), de métaux totaux, de métaux échangeables ainsi que de composante biologique du sol ; seule la composante physique sous ce traitement n'a pas été améliorée par rapport aux autres traitements. Cette étude sur le terrain ainsi que l'agrégation des données sous forme d'un indice de la qualité du sol mettent en évidence qu'il est possible de cibler la composante du sol que l'on souhaite améliorer. Ainsi, les agriculteurs peuvent choisir la dose de cendres à appliquer en fonction de la composante à améliorer, dès lors que les effets sur les autres composantes ne sont pas délétères. Dans notre étude, l'apport de  $5 \text{ t ha}^{-1}$  a permis l'amélioration de la composante physique relativement aux autres traitements jusqu'à 12 mois après l'épandage. En revanche, la composante chimique, constituée des métaux totaux, des métaux échangeables et de la composante agronomique, a eu les scores les plus faibles pour ce traitement après 5 mois. Cet effet moins bon sur la composante chimique est à relativiser avec le fait que l'approche proposée se veut relative, et que ces scores ne font que comparer les traitements entre eux ; dans un contexte plus global, la comparaison de l'ensemble des propriétés du sol avec les valeurs de référence a permis de mettre en évidence que le traitement  $5 \text{ t ha}^{-1}$  n'a pas eu d'effet délétère sur la qualité du sol.

Il serait intéressant de développer des travaux complémentaires afin de déterminer les processus impliqués dans l'amélioration de la composante physique du sol, sous l'effet de l'apport des cendres. Ainsi, il serait intéressant de tester notamment si la stabilité des agrégats augmente suite (1) à l'augmentation de la sécrétion de polysaccharides extracellulaires par les bactéries en raison d'un stress osmotique induit par l'apport de cendres et (2) à la floculation des argiles suite à l'augmentation des teneurs en calcium et magnésium. Par ailleurs, des études complémentaires pourraient aussi être mises en place afin d'évaluer l'effet des cendres sur la densité apparente du sol, car cette dernière était corrélée négativement avec la teneur en cendres, mais aucune modification significative n'avait été enregistrée par rapport au contrôle. En outre, il serait aussi très intéressant d'investiguer sur l'effet des traitements de cendres utilisés dans notre étude sur la texture du sol, sachant que les travaux de

Demuyne et al. (2014) ont mis en évidence que des apports très élevés de cendres volantes de charbon ( $230 \text{ t ha}^{-1}$ ) pouvaient entraîner, 15 ans après les apports, une modification de la texture du sol, liée à une augmentation de la teneur en limon fin et à une diminution des argiles, et conduisant à un évitement du sol par l'espèce épigée *E. faetida*.

Concernant l'effet sur les communautés lombriciennes, bien qu'il n'ait pas été significatif suite à l'apport de cendres de *Miscanthus* au champ (chapitre 3.3), des tendances, bien que limitées dans le temps, ont tout de même été observées dans le traitement recevant le plus de cendres ( $5 \text{ t ha}^{-1}$ ) avec une réduction de 75%, après 5 mois, de l'abondance des épigés (représentés exclusivement par *Lumbricus castaneus*) et de 44% des épi-anéciques (représentés exclusivement par *Lumbricus terrestris*), effet qui n'était plus visible après 12 mois. Il serait donc intéressant d'effectuer des études complémentaires sur d'autres espèces en conditions contrôlées afin de s'assurer de l'innocuité des cendres, en considérant notamment les espèces qui sont directement en contact avec la cendre épanchée. Par ailleurs, au regard des résultats de Mc Tavish (2020b) qui mettent en évidence que l'effet des cendres sur les lombriciens dépend aussi de l'origine de la cendre utilisée, il faudrait envisager de mettre en place des travaux avec de la cendre provenant de *Miscanthus* cultivé sur différents sites, contaminés et non contaminés.

### 3. Discussion de l'approche expérimentale

#### 3.1 Etude sur le terrain en condition réelle

La plupart des travaux de cette thèse ont été menés sur le terrain en conditions « réelles », c'est-à-dire en conditions non ou très peu contrôlées. Ils sont basés sur des essais qui ont été mis en place spécifiquement pour cette thèse. La réussite de ce type d'essais dépend de plusieurs facteurs dont l'un des plus importants est une bonne communication et une réelle coordination avec les gestionnaires du site et les agriculteurs, afin de disposer notamment des informations sur les périodes pendant lesquelles il est possible d'accéder au site. Par ailleurs, d'autres facteurs qui ne sont pas contrôlés, contrairement à un dispositif agronomique conduit en station expérimentale de recherche, interviennent et sont à considérer :

- les prélèvements de terrain, répétitions doivent aussi être adaptés aux variabilités du site qui peuvent être importantes, afin d'assurer une puissance statistique suffisante (Webster, 2007). Les coûts humains associés conduisent de fait à une sélection des paramètres mesurés.
- l'historique des sites et les itinéraires techniques sont imposés. Dans notre étude, sur la parcelle de blé notamment, ils ont reflété la transition dans laquelle l'agriculture s'est déjà engagée en optant pour des pratiques agroécologiques.
- même sur une petite région, la variabilité des types de sol et de leur potentialité entre sites est importante.

Alors que les études menées au laboratoire ou dans des dispositifs expérimentaux contrôlés qui développent le plus souvent des approches analytiques (un ou deux seuls paramètres variant, tous les autres étant égaux par ailleurs, comme par exemple les SOERE), permettent de mieux appréhender les processus en jeu, les études menées sur des essais moins contrôlés, comme c'est le cas pour cette thèse, en générant des observations/résultats plus proches de la réalité et de sa complexité, sont indispensables.

Concernant le dispositif expérimental mis en place afin d'évaluer l'effet des cendres sur la qualité du sol (chapitre 3.3), pour rappel, il comprenait quatre blocs espacés les uns des autres de 10 m et constitués chacun de quatre placettes, de 3 m x 3 m (figure 23) comme effectué par Reed et al. (2017). L'espacement entre placettes d'un même bloc était de 3 m. La taille des placettes était relativement petite, pouvant conduire à un effet bordure, sachant que les points d'échantillonnages n'étaient localisés qu'à une distance comprise entre 50 et 75 cm du bord. Cependant, même s'il pourrait être amélioré, ce dispositif a été conçu afin de respecter les contraintes liées à la surface disponible, mise à disposition par l'agriculteur, ainsi qu'à la quantité de cendres disponibles ; il a tout de même permis d'observer l'effet des cendres. L'espacement entre les placettes d'au moins 3 m ne devrait pas conduire à une contamination, une fois que les cendres sont mélangées avec le sol après le hersage. En revanche, au moment de l'application manuelle des cendres sèches, les cendres s'envolent facilement, ce qui peut conduire à une perte de matière et éventuellement à une contamination. Afin d'éviter cet inconvénient, les cendres pourraient être préalablement humidifiées.

## 3.2 Approche multiparamètre et agrégation des données sous forme d'un indice

Les approches multiparamètres des chapitres 2.1, 2.2 et 3.3 ont permis de renseigner paramètre par paramètre la qualité des sols i) sous culture de *Miscanthus* dans différents sites (2.1) ou comparée à une culture de blé et une zone non-cultivée (2.2), ii) sous une culture de blé ayant reçu différentes doses de cendres (2.3). Compléter cette approche, où les paramètres sont étudiés séparément, par une agrégation des données sous forme de score, comme effectué dans les chapitres 2.2 et 3.3, a permis d'aboutir à une vision globale de la qualité des sols et à la création d'un indice agrégé de la qualité des sols. Si cette vision globale présente un réel intérêt scientifique et la forme de représentation en radar présente un intérêt pédagogique, en revanche, elle peut conduire à une perte d'informations en raison des choix effectués pour la mise en place de l'indice (Stauffer, 2014). Dans notre étude, nous avons privilégié une démarche simplifiée de la méthode *SMAF (Soil Management Assessment Framework)* proposée par Andrews et al (2004) qui consiste à (1) sélectionner un jeu de données minimum avec des indicateurs physiques, chimiques et biologiques, (2) donner un score sans unité à chaque indicateur à partir de courbes réponses définies d'après les opinions d'experts et bornées avec les données minimum et maximum obtenues sur le site, et (3) intégrer ces scores dans une note finale de la qualité du sol.

L'avantage de notre approche est qu'elle est simple à mettre en œuvre, tout en permettant d'avoir une idée globale de la qualité du sol ; les scores des différentes catégories sont d'ailleurs cohérents avec les résultats obtenus. Cette approche présente l'intérêt d'être suffisamment généraliste pour pouvoir être utilisée dans des études ayant des objectifs de recherche différents, comme c'était le cas pour nos chapitres 2.2 et 3.3. Néanmoins, des pistes d'amélioration pourraient être proposées à notre démarche, notamment en donnant des poids différents aux catégories d'indicateurs dans leur contribution à la note finale, comme recommandé par Andrews et al. (2004). En effet, dans notre étude, la note finale prend en compte les cinq catégories (composante biologique, composante agronomique, métaux échangeables, métaux totaux et composante physique) ayant toutes un poids égal à 1. De ce fait, la composante globale chimique du sol représentée à travers 3 catégories (les catégories « composantes agronomiques », « métaux échangeables » et « métaux totaux »), a donc trois fois plus de poids que la composante biologique ou la composante physique. Réduire le poids des trois catégories chimiques permettrait d'éviter que la note finale de la qualité du sol ne soit influencée par cette composante de manière trop importante. C'est aussi pour cette raison que dans notre étude, il est plus pertinent de s'intéresser aux différents scores des catégories étudiées plutôt que de se



focaliser sur le score final de la qualité du sol. Pour cette même raison, la représentation sous forme de graphique en radar, comme effectuée par Orbiot et al. (2016), est préférable à la représentation sous forme de diagramme en barre, qui est, par exemple, utilisée par Thoumazeau et al. (2019).

Par ailleurs, dans notre étude, les métaux échangeables et totaux ont été sélectionnés afin d'évaluer d'une part le risque de contamination en ETM suite à l'apport de cendres (chapitre 3.3) et d'autre part la relation du *Miscanthus* avec les ETM du sol sur un site *a priori* non contaminé. Les métaux échangeables et totaux sont donc spécifiques aux objectifs de recherche de notre étude et leur évaluation n'est probablement pas pertinente pour répondre à d'autres questions. Ils ne sont d'ailleurs pas pris en compte dans certains indices de la qualité du sol couramment utilisés tel que le SMAF (Karlen et al., 2008). A l'inverse, certains indicateurs de la qualité du sol sont plus classiques et permettent une évaluation des caractéristiques de base de la qualité du sol. C'est notamment le cas de la teneur en  $C_{org}$ , du pH et du phosphore Olsen qui sont couramment utilisés (Bünemann et al., 2018).

Concernant les sept indicateurs qui constituent la composante biologique, six correspondent à des indicateurs lombriciens. Même si les communautés lombriciennes font partie des indicateurs clés recommandés à l'échelle européenne par le programme ENVASSO (Bispo et al., 2009a) et plus récemment par Griffiths et al. (2016) en lien avec les services écosystémiques de séquestration du carbone, de régulation hydrique et de production de nutriments, il aurait été intéressant d'intégrer d'autres indicateurs biologiques dans cette étude (Bispo et al., 2017). Ainsi, si les activités enzymatiques avaient été mesurées en mars, elles auraient pu être intégrées au calcul de la composante biologique. La biodisponibilité des métaux aurait pu être évaluée, suite à l'apport de cendres ou sur sites marginaux, grâce à l'indice escargot (Pauget et al., 2015), qui est d'ailleurs recommandé par le projet Bioindicateur de l'ADEME. Dans le même esprit, les indicateurs végétaux d'effet (OMEGA 3) ou de transfert des métaux (indice CET) auraient pu être mobilisés (Grand et al., 2018). Parmi la mésofaune, l'étude des traits fonctionnels des invertébrés du sol aurait pu être utilisée comme indicateur de l'exposition aux perturbations du sol (Hedde et al., 2012). De nombreux autres indicateurs auraient pu être étudiés, mais comme vu dans le chapitre 2.1, en raison de limites liées au coût, il a fallu trouver un compromis entre le nombre d'indicateurs et le nombre de répétitions permettant d'avoir une puissance statistique suffisante.

Dans cette étude, nous avons choisi de ne pas inclure le rendement au calcul de l'indice. Ce choix a été fait initialement dans le chapitre 2.2 car tous les traitements n'avaient pas de rendement, et notamment le traitement non-cultivé, ce qui ne permettait pas de comparaison de cet indicateur entre les traitements. Dans le chapitre 3.3, le rendement n'a pas été intégré à l'indice car notre étude n'avait

pas pour objectif d'évaluer l'effet des cendres sur le rendement, sachant que les concentrations optimales en phosphore et potassium du sol étaient déjà atteintes, mais plutôt les risques associés à l'apport de cendres et son effet sur le sol en général. Toutefois, le rendement ainsi que la teneur en protéines pourraient être intégrés à l'indice dans une sixième catégorie appelée « productivité », comme effectué dans l'étude d'Obriot et al. (2016).

Notre approche dans le calcul de l'indice de qualité du sol s'appuie sur la comparaison entre traitements, et n'utilise pas les valeurs de référence minimale et maximale, contrairement à ce qui est fait dans d'autres travaux (Obriot et al., 2016, Viaud et al., 2018). Cela permet de s'affranchir des valeurs de référence qui ne sont pas toujours disponibles, notamment pour les indicateurs biologiques qui peuvent varier de manière importante en fonction de la localisation géographique du site ou de l'usage du sol. La pertinence de l'utilisation de certaines valeurs de référence proposées peut aussi être remise en question, en raison des différences dans les méthodes de prélèvement ou dans les méthodes d'analyses. Les seules valeurs de références utilisées sont les valeurs optimales qui concernent le  $N_{\text{tot}}$ , le pH, le  $P_2O_5$  Olsen et le  $K_2O$  échangeable et qui ont été sélectionnées pour permettre une fertilité optimale.

## 4. Conclusion et perspectives

Les conditions expérimentales dans le monde « réel » ont permis d'obtenir des résultats particulièrement réalistes. Ces résultats ne provenant que de quelques sites, ils ne peuvent pas être généralisés à l'ensemble du territoire. Des études complémentaires sur d'autres sites ayant des contextes pédoclimatiques différents, des historiques parcellaires différents, sont donc nécessaires, afin de pouvoir répondre avec certitude aux questions posées. Néanmoins, cette étude a permis de souligner l'hétérogénéité des réponses en fonction des sites. Ainsi, notre étude a mis en évidence que sur un site marginal pollué, comparé à une zone non cultivée, le *Miscanthus* n'avait pas d'effet significatif sur la qualité du sol et était associé à un faible rendement, alors que sur un site marginal non contaminé, comparé à une zone non cultivée (ancienne prairie), le *Miscanthus* avait un effet négatif sur la qualité du sol associé à un rendement élevé. L'hétérogénéité de ces résultats souligne la nécessité de continuer à étudier la qualité du sol, à travers l'évaluation conjointe des composantes chimique, physique et biologique, afin de déterminer dans quelles conditions pédoclimatiques et en fonction de quels historiques culturels, la culture du *Miscanthus* pourrait avoir (1) un effet positif sur

la qualité du sol et (2) un effet phytostabilisant qui est démontré dans des études effectuées en laboratoire.

Sur site agricole, la culture du *Miscanthus* n'a pas été associée à des effets négatifs sur le sol, mais la qualité du sol s'est avérée globalement inférieure à celle mesurée sous une culture de blé, ce qui contredit de nombreuses études ayant montré les effets positifs de la culture du *Miscanthus* sur la qualité du sol par comparaison à des cultures annuelles. Cette différence s'explique par le fait que les études citées préalablement comparent généralement les cultures de *Miscanthus* avec des cultures annuelles, mais conduites de manière conventionnelle, alors qu'en France, comme dans le cas de cette thèse, de nombreux agriculteurs sont dans une transition agroécologique qui influence positivement la qualité du sol. Il est donc important de souligner que ces changements de pratiques plus agroécologiques entraînent des modifications dans les comparaisons des différents traitements.

Concernant l'effet des cendres de *Miscanthus* sur la qualité du sol, l'absence d'effets délétères aux doses utilisables en fertilisation sur l'espèce endogée *A. caliginosa* est encourageant concernant l'utilisation de ces cendres. Toutefois, des études complémentaires sur d'autres espèces endogées et sur d'autres catégories écologiques en conditions contrôlées sont requises, notamment en raison des tendances à la réduction des épigés et épi-anéciques observée cinq mois après l'épandage des cendres, même si ces résultats sont limités dans le temps.

Les résultats obtenus au terrain sur l'effet des cendres sont aussi encourageants. Ils permettent d'envisager une utilisation des cendres en fertilisation, notamment pour ses apports en phosphore et potassium. Ils révèlent aussi que la cendre pourrait être utilisée pour améliorer la qualité du sol d'une manière globale et notamment la stabilité des agrégats. Néanmoins, des études complémentaires doivent être effectuées, afin de s'assurer qu'il y a un bénéfice sur le rendement de l'augmentation des teneurs en phosphore Olsen et potassium échangeable, notamment lorsque les cendres sont épandues sur un sol carencé en ces deux éléments. Il serait aussi intéressant d'évaluer si les effets positifs sur la qualité du sol sont valables dans d'autres conditions pédoclimatiques. De plus, afin de faciliter son application sur le sol, l'apport des cendres en mélange avec du compost devrait être étudié. Il pourrait aussi être envisagé d'évaluer l'effet des cendres de *Miscanthus* en mélange avec des cendres d'autres types de biomasse végétal, tel que le bois dont les volumes produits annuellement sont plus importants.

Les résultats obtenus au cours de cette étude présentent un réel intérêt dans l'aide au développement de la filière *Miscanthus*. Des pistes ont été proposées (cf discussion) pour continuer à étudier cette filière. Afin de réaliser une évaluation plus complexe et plus englobante, ces résultats pourraient alimenter l'analyse de cycle de vie (ACV) effectuée dans le cadre du projet BFF. En effet, le seul

indicateur de la qualité du sol pris en compte pour le moment dans cette ACV est le carbone organique. Les différents paramètres du sol, incluant la composante physique, notamment la stabilité structurale du sol considérée comme un proxy du risque d'érosion des sols (Le Bissonnais, 1996), et la composante biologique, notamment les lombriciens et micro-organismes considérés comme des indicateurs de l'érosion de la biodiversité des sols (Bispo et al., 2009), pourraient être intégrés dans cette ACV. De plus, cette ACV pourrait aussi être complétée par la prise en compte de la valorisation locale des cendres dans un contexte de fertilisation. La prise en compte des émissions de CO<sub>2</sub> lors de la combustion du Miscanthus sera aussi un point important lors de l'évaluation agro-environnementale de la filière Miscanthus, permettant de savoir si la production d'énergie liée au Miscanthus participe ou non aux émissions de gaz à effet de serre et par conséquent au changement climatique.

Enfin, en complément de cette évaluation agro-environnementale, la prise en compte d'une composante sociale et économique permettrait d'améliorer le diagnostic et de conclure sur la durabilité de la filière énergétique du Miscanthus.



---

## ANNEXES

---

# Annexe 1

Carractéristiques des sites de la Bioferme, Marne et Gondoire et Chanteloup

## Site de la Bioferme

### Caractéristiques générales du site

Le site de la Bioferme appartient à l'entreprise Phytoresource. Il s'agit d'une exploitation agricole localisée sur la commune de La Brosse-Montceaux à une dizaine de kilomètres au sud-est de Montereau-Fault-Yonne en Seine-et-Marne (coordonnées GPS : 48°21'8.08"N, 3°1'24.98 E). Une centaine d'hectares sont cultivés au sein de la Bioferme dont 40 ha de *Miscanthus x giganteus*.

### Géologie et topographie

La commune de La Brosse-Montceaux s'étend au sud de la plaine alluviale de l'Yonne sur un plateau présentant un recouvrement limoneux sur un substratum crayeux (figure 36).



**Figure 36** : Position du site de la Bioferme, carte géologique du BRGM (source : [www.infoterre.brgm.fr](http://www.infoterre.brgm.fr))

D'après la carte géologique au 1/50000<sup>ème</sup> de Montereau-Fault-Yonne, la succession lithostratigraphique du site de la Bioferme est la suivante :

- Limons des Plateaux,
- Craie du Campanien.

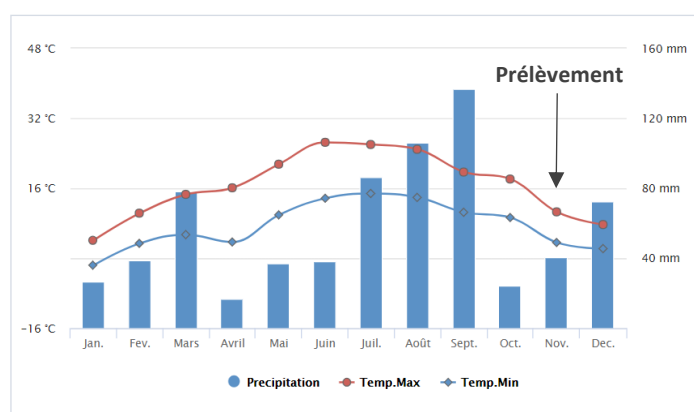
Concernant la topographie, le site de la Bioferme est situé à 75 m d'altitude au-dessus du niveau de la mer et ne présente pas de pente.

### Climat

(Source : Météo France)

Dans l'ensemble de la France, l'année 2017 (année des prélèvements du chapitre 2.1) est caractérisée par des températures élevées et un fort déficit de précipitations, ce qui en fait l'une des années associant de manière remarquable chaleur et sécheresse sur la période 1959-2017. L'année 2017 a été marquée par des températures supérieures aux valeurs saisonnières et le printemps et l'été ont été les 2<sup>èmes</sup> plus chauds jamais observés depuis 1900.

Le climat de la région Île-de-France, dans laquelle se situent les trois sites d'étude, est de type océanique altéré. C'est une zone de transition entre le climat océanique et les climats de montagne et semi-continentale.



**Figure 37** : Diagramme ombrothermique de janvier 2017 à décembre 2017 sur la station de Melun située à 35 km de la Bioferme (source : Météo France)

Concernant le site de la Bioferme, les données climatiques proviennent de la station météorologique de Melun située à 35 km. Entre 1981 et 2010, la moyenne annuelle des températures minimales a été de 6.8°C et celle des températures maximales a été de 15.7°C. En 2017, la moyenne annuelle des températures minimales était de 7.4°C et celle des températures maximales a été de 16.7°C. Au mois de novembre où ont été effectués les prélèvements, une température minimale de 3.6°C a été enregistrée et la température maximale enregistrée a été de 10.6°C (figure 37).

Concernant la pluviométrie, le total annuel moyen enregistré entre 1981 et 2010 est de 676,9 mm d'eau. L'année 2017 a enregistré une hauteur de précipitation totale de 702,8 mm dont 40,4 mm pour le mois de novembre (figure 37).



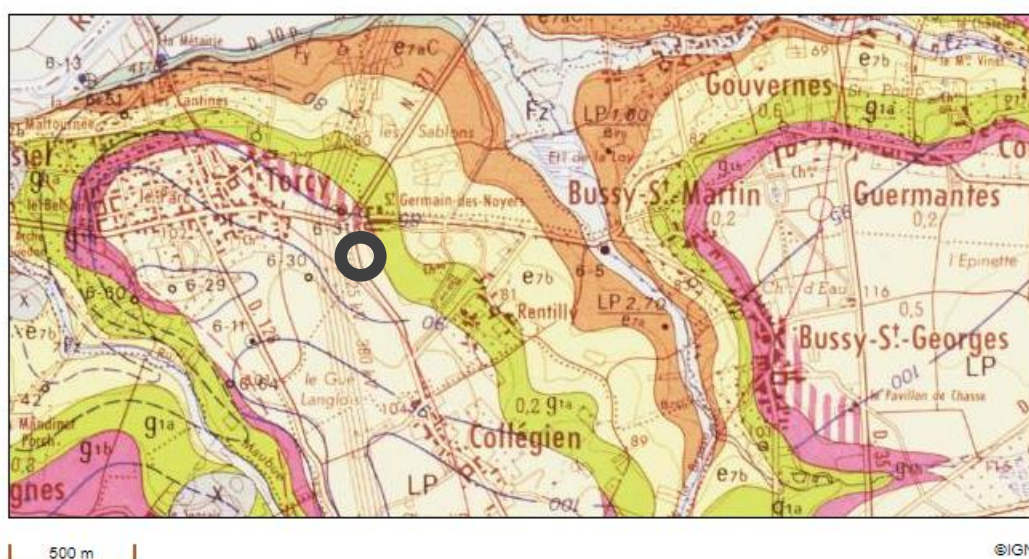
## Site de Marne et Gondoire

### Caractéristiques générales du site

Le site de Marne & Gondoire est situé sur la commune de Bussy Saint-Martin (Seine-et-Marne) à une vingtaine de kilomètres à l'est de Paris (coordonnées GPS : 48°50'57.96'N ; 2°39'43.62 E). Ce site est la propriété de l'Epamarne (Etablissements publics d'aménagement de Marne-la-Vallée) et est géré par la société Saint Germain Paysage. Jusqu'en 2003, ce site était cultivé (blé, maïs, orge, colza...). Puis, il a été mis en jachère jusqu'à ce que les parcelles d'essais BFF soient implantées en 2013.

Ce site a la particularité d'être positionné le long de l'autoroute A104, l'un des tronçons de la Francilienne. D'après les comptages effectués jusqu'en 2014 par le département de Seine-et-Marne, le trafic routier journalier moyen sur ce tronçon est supérieur à 50 000 véhicules (Département Seine-et-Marne, 2016). Cette section a été mise en service au milieu des années 1980 ; cela fait donc plus de 30 ans que le site longe l'autoroute et est exposé à une source de contamination par de nombreux polluants, parmi lesquels les métaux lourds et les hydrocarbures.

### Géologie et topographie



**Figure 38** : Position du site de Marne & Gondoire, carte géologique du BRGM (source : [www.infoterre.brgm.fr](http://www.infoterre.brgm.fr))

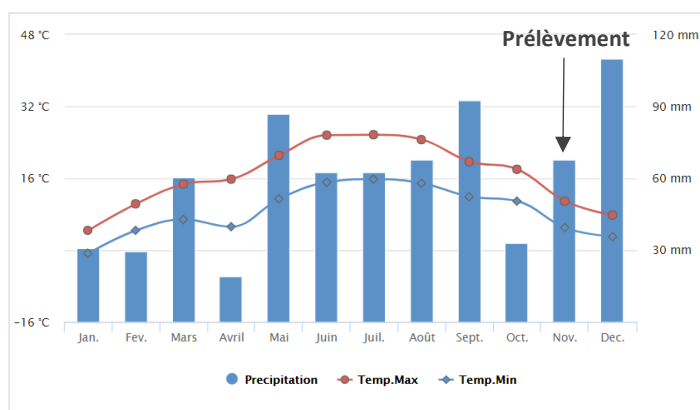
Le substrat géologique de ce site est constitué de limons des plateaux (figure 38, carte géologique de Bussy-Saint-Martin au 1/50 000ème, BRGM).

## ANNEXES

Concernant la topographie, cette parcelle ne présente pas de pente et est située à une altitude de 95 m au-dessus du niveau de la mer.

### Climat

(Source : Météo France)



**Figure 39** : Diagramme ombrothermique de janvier 2017 à décembre 2017 sur la station de Roissy-en-France située à 20 km de Marne & Gondoire (source : Météo France)

Entre 1981 et 2010, la moyenne annuelle des températures minimales a été de 7.8°C et celle des températures maximales a été de 15.5°C sur ce site. En 2017, la moyenne annuelle des températures minimales a été de 8.6 °C et celle des températures maximales a été de 16.6°C. Au mois de novembre, mois pendant lequel les prélèvements ont été effectués, une température minimale de 5°C a été enregistrée et la température maximale enregistrée a été de 10.9°C (figure 39).

Concernant la pluviométrie, le total annuel moyen enregistré entre 1981 et 2010 est de 693.6 mm d'eau. L'année 2017 a enregistré une hauteur de précipitation totale de 723.9 mm dont 67.8 mm pour le mois de novembre (figure 39).

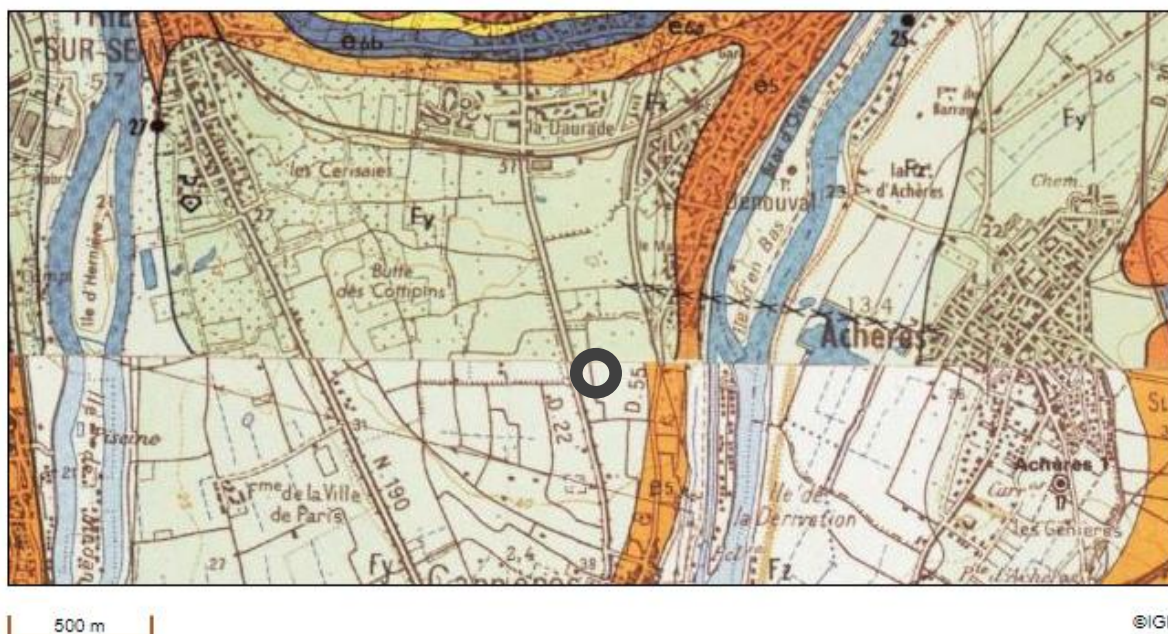
## Site de Chanteloup

### Caractéristiques générales du site

Le site de Chanteloup est situé sur la commune de Chanteloup-les-Vignes (Yvelines) à une vingtaine de kilomètres au nord-ouest de Paris (coordonnées GPS : 48°57' 44.86 N ; 2°2'8.03 E).

Les terres agricoles de Chanteloup-les-Vignes ont reçu des épandages d'eaux usées de Paris de 1895 à 2002. Ces eaux usées brutes ont été épandues sur 300 ha de terres agricoles qui sont aujourd'hui contaminées en polluants organiques (HAP, PCB) et métaux lourds (notamment Cu, Zn, Pb, Cd et Hg) sur environ 40 cm de profondeur. Ces parcelles polluées ont été laissées en friche depuis l'interdiction des cultures maraîchères au début des années 2000, jusqu'au lancement du projet Cœur Vert en 2010. Ce projet a pour objectifs, entre autres, la création d'une filière Miscanthus ainsi que la stabilisation des polluants dans le sol, afin de limiter leur mobilité dans la nappe phréatique et la Seine située à proximité.

### Géologie et topographie



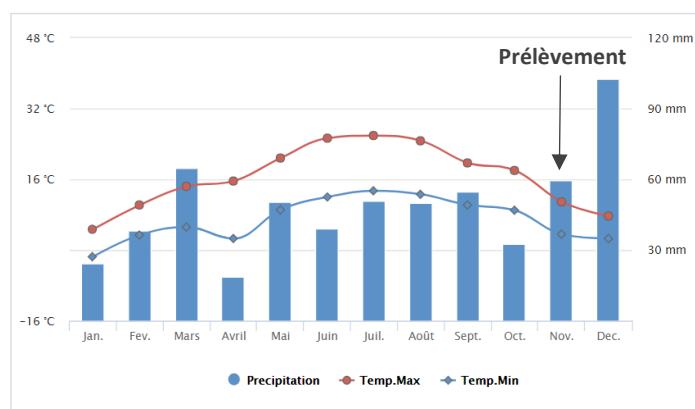
**Figure 40** : Position du site de Chanteloup, carte géologique du BRGM (source : [www.infoterre.brgm.fr](http://www.infoterre.brgm.fr))

Le substrat géologique de ce site est composé d'alluvions anciennes de bas niveau (figure 40, carte géologique de Chanteloup-Les-Vignes au 1/50 000<sup>ème</sup>, BRGM).

Concernant la topographie, la parcelle de Chanteloup ne présente pas de pente et est située à une altitude de 40 m au-dessus du niveau de la mer.

## Climat

(Source : Météo France)



**Figure 41** : Diagramme ombrothermique de janvier 2017 à décembre 2017 sur la station de Pontoise située à 10 km du site de Chanteloup (source : Météo France).

Entre 1981 et 2010, la moyenne annuelle des températures minimales a été de 6.6°C et celle des températures maximales a été de 15.2°C sur ce site. En 2017, la moyenne annuelle des températures minimales a été de 6.8 °C et celle des températures maximales a été de 16.5°C. Au mois de novembre où ont été effectués les prélèvements, une température minimale de 3.6°C a été enregistrée et la température maximale enregistrée a été de 10.9°C (figure 41).

Concernant la pluviométrie, le total annuel moyen enregistré entre 1981 et 2010 est de 638.3 mm d'eau. L'année 2017 a enregistré une hauteur de précipitation totale de 585.9 mm dont 59.7 mm pour le mois de novembre (figure 41).

## Annexe 2

Matériel supplémentaire du chapitre 2.1

**Table 31** : Mean abundance of species under undisturbed meadow and Miscanthus treatments at Bioferme (BF), Marne et Gondoire (MG) and Chanteloup (CH) sites.

Species	Abundance (ind m <sup>-2</sup> )				
	BF		MG		CH
	Miscanthus	Undisturbed meadow	Miscanthus	Undisturbed meadow	Miscanthus
<b>Epigeic</b>					
<i>Lumbricus castaneus</i>	14.7	36.0	5.3	0.0	1.3
<b>Anecic</b>					
<i>Aporrectodea giardi</i>	17.3	32.0	4.0	0.0	0.0
<i>Aporrectodea longa longa</i>	0.0	8.0	4.0	0.0	0.0
<i>Lumbricus terrestris</i>	5.3	6.7	1.3	1.3	8.0
<b>Endogeic</b>					
<i>Allolobophora icterica</i>	59.9	119.1	27.9	0.0	0.0
<i>Allolobophora minima</i>	0.0	11.8	12.5	0.0	0.0
<i>Allolobophora rosea rosea</i>	8.1	35.3	9.8	0.0	0.0
<i>Aporrectodea c. caliginosa typica</i>	1.6	142.6	41.8	0.0	0.0
<i>Allolobophora c. chlorotica albanica</i>	21.0	5.9	1.4	0.0	0.0
<b>Total</b>	128.0	397.3	107.9	1.3	9.3

## Annexe 3

**Tableau 32:** Scores des indicateurs et sommes des scores (Total) par individu (placette) de la composante agronomique et des métaux échangeables du chapitre 2.2.

Traitement	Placette	Composante agronomique						Métaux échangeables					
		N <sub>tot</sub>	C <sub>org</sub>	pH	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Olsen	K <sub>2</sub> O échangeable	Ca total	Na total	Total	Cu disponible	Pb disponible	Zn disponible
<b>Mars</b>													
<b>Blé</b>	<b>1</b>	1.00	0.97	0.00	0.98	0.74	1.00	1.00	<b>5.68</b>	0.10	0.66	0.00	<b>0.76</b>
	<b>2</b>	0.96	1.00	0.03	1.00	0.79	0.59	0.55	<b>4.92</b>	0.08	0.39	0.15	<b>0.62</b>
	<b>3</b>	0.73	0.64	0.18	0.90	0.88	0.18	0.63	<b>4.13</b>	0.20	0.39	0.58	<b>1.17</b>
	<b>4</b>	0.66	0.59	0.22	0.67	0.85	0.16	0.47	<b>3.63</b>	0.00	0.37	0.61	<b>0.98</b>
<b>Miscanthus</b>	<b>1</b>	0.50	0.79	0.65	0.00	0.13	0.09	0.68	<b>2.84</b>	0.29	0.00	0.85	<b>1.13</b>
	<b>2</b>	0.41	0.64	0.87	0.34	0.00	0.04	0.63	<b>2.93</b>	0.14	0.21	0.34	<b>0.69</b>
	<b>3</b>	0.21	0.58	0.94	0.51	0.62	0.04	0.58	<b>3.49</b>	0.94	0.85	0.79	<b>2.57</b>
<b>Non-cultivé</b>	<b>1</b>	0.00	0.00	0.95	0.62	1.00	0.01	0.48	<b>3.06</b>	1.00	0.95	0.71	<b>2.66</b>
	<b>2</b>	0.11	0.17	0.94	0.55	0.61	0.00	0.00	<b>2.37</b>	0.76	1.00	1.00	<b>2.76</b>
	<b>3</b>	0.18	0.22	0.91	0.38	0.89	0.06	0.00	<b>2.64</b>	0.55	0.31	0.76	<b>1.62</b>
<b>Octobre</b>													
<b>Blé</b>	<b>1</b>	1.00	1.00	0.00	0.94	0.81	1.00	1.00	<b>5.75</b>	0.98	0.73	0.00	<b>1.71</b>
	<b>2</b>	0.96	1.00	0.02	0.98	0.79	0.46	0.42	<b>4.63</b>	0.41	0.49	0.09	<b>0.99</b>
	<b>3</b>	0.80	0.80	0.14	0.93	1.00	0.15	0.42	<b>4.24</b>	0.25	0.49	0.43	<b>1.17</b>
	<b>4</b>	0.84	0.88	0.17	0.74	0.77	0.18	0.79	<b>4.37</b>	0.07	0.44	0.31	<b>0.82</b>
<b>Miscanthus</b>	<b>1</b>	0.56	0.66	0.59	0.00	0.00	0.09	1.00	<b>2.90</b>	0.00	0.00	0.57	<b>0.57</b>
	<b>2</b>	0.44	0.59	0.77	0.35	0.49	0.06	0.38	<b>3.08</b>	0.61	0.55	0.82	<b>1.98</b>
	<b>3</b>	0.31	0.40	0.81	0.59	0.60	0.05	0.46	<b>3.22</b>	0.61	0.61	0.77	<b>2.00</b>
<b>Non-cultivé</b>	<b>1</b>	0.00	0.00	0.94	0.65	0.95	0.00	0.33	<b>2.86</b>	1.00	1.00	1.00	<b>3.00</b>
	<b>2</b>	0.04	0.07	0.88	0.50	0.69	0.00	0.00	<b>2.19</b>	0.66	0.80	0.91	<b>2.37</b>
	<b>3</b>	0.27	0.24	0.77	0.50	0.75	0.04	0.46	<b>3.03</b>	0.41	0.27	0.85	<b>1.52</b>

## Annexe 4

**Tableau 33:** Scores des indicateurs et sommes des scores (Total) par individu (placette) des métaux totaux du chapitre 2.2.

Traitement	Placette	Métaux totaux													
		Cd total	Mo total	Pb total	Tl total	Cr total	Co total	Cu total	Ni total	Zn total	Al total	Fe total	Mg total	Mn total	Total
<b>Mars</b>															
<b>Blé</b>	<b>1</b>	0.31	0.00	0.11	0.14	0.11	1.00	0.97	0.00	0.98	0.74	1.00	1.00	0.10	<b>6.45</b>
	<b>2</b>	0.00	0.06	0.00	0.00	0.18	0.96	1.00	0.03	1.00	0.79	0.59	0.55	0.08	<b>5.25</b>
	<b>3</b>	0.58	0.25	0.28	0.06	0.30	0.73	0.64	0.18	0.90	0.88	0.18	0.63	0.20	<b>5.81</b>
	<b>4</b>	0.55	0.41	0.33	0.09	0.55	0.66	0.59	0.22	0.67	0.85	0.16	0.47	0.00	<b>5.56</b>
<b>Miscanthus</b>	<b>1</b>	0.25	0.68	0.56	0.48	1.00	0.50	0.79	0.65	0.00	0.13	0.09	0.68	0.29	<b>6.10</b>
	<b>2</b>	0.58	0.82	0.67	0.56	0.15	0.41	0.64	0.87	0.34	0.00	0.04	0.63	0.14	<b>5.85</b>
	<b>3</b>	0.80	0.70	0.78	0.52	0.45	0.21	0.58	0.94	0.51	0.62	0.04	0.58	0.94	<b>7.67</b>
<b>Non-cultivé</b>	<b>1</b>	1.00	0.92	1.00	0.93	0.00	0.00	0.00	0.95	0.62	1.00	0.01	0.48	1.00	<b>7.91</b>
	<b>2</b>	0.67	1.00	0.78	1.00	0.31	0.11	0.17	0.94	0.55	0.61	0.00	0.00	0.76	<b>6.88</b>
	<b>3</b>	0.35	0.74	0.36	0.26	0.32	0.18	0.22	0.91	0.38	0.89	0.06	0.00	0.55	<b>5.21</b>
<b>Octobre</b>															
<b>Blé</b>	<b>1</b>	0.20	0.00	0.06	0.02	0.10	1.00	1.00	0.00	0.94	0.81	1.00	1.00	0.98	<b>7.11</b>
	<b>2</b>	0.23	0.30	0.00	0.11	0.89	0.96	1.00	0.02	0.98	0.79	0.46	0.42	0.41	<b>6.56</b>
	<b>3</b>	0.54	0.24	0.16	0.00	0.84	0.80	0.80	0.14	0.93	1.00	0.15	0.42	0.25	<b>6.27</b>
	<b>4</b>	0.55	0.56	0.29	0.24	0.86	0.84	0.88	0.17	0.74	0.77	0.18	0.79	0.07	<b>6.94</b>
<b>Miscanthus</b>	<b>1</b>	0.00	0.67	0.32	0.32	0.50	0.56	0.66	0.59	0.00	0.00	0.09	1.00	0.00	<b>4.72</b>
	<b>2</b>	0.41	0.69	0.10	0.28	0.00	0.44	0.59	0.77	0.35	0.49	0.06	0.38	0.61	<b>5.16</b>
	<b>3</b>	0.32	0.65	0.39	0.31	0.36	0.31	0.40	0.81	0.59	0.60	0.05	0.46	0.61	<b>5.86</b>
<b>Non-cultivé</b>	<b>1</b>	1.00	1.00	1.00	0.95	1.00	0.00	0.00	0.94	0.65	0.95	0.00	0.33	1.00	<b>8.81</b>
	<b>2</b>	0.46	0.92	0.48	1.00	0.51	0.04	0.07	0.88	0.50	0.69	0.00	0.00	0.66	<b>6.23</b>
	<b>3</b>	0.45	0.74	0.23	0.34	0.59	0.27	0.24	0.77	0.50	0.75	0.04	0.46	0.41	<b>5.79</b>

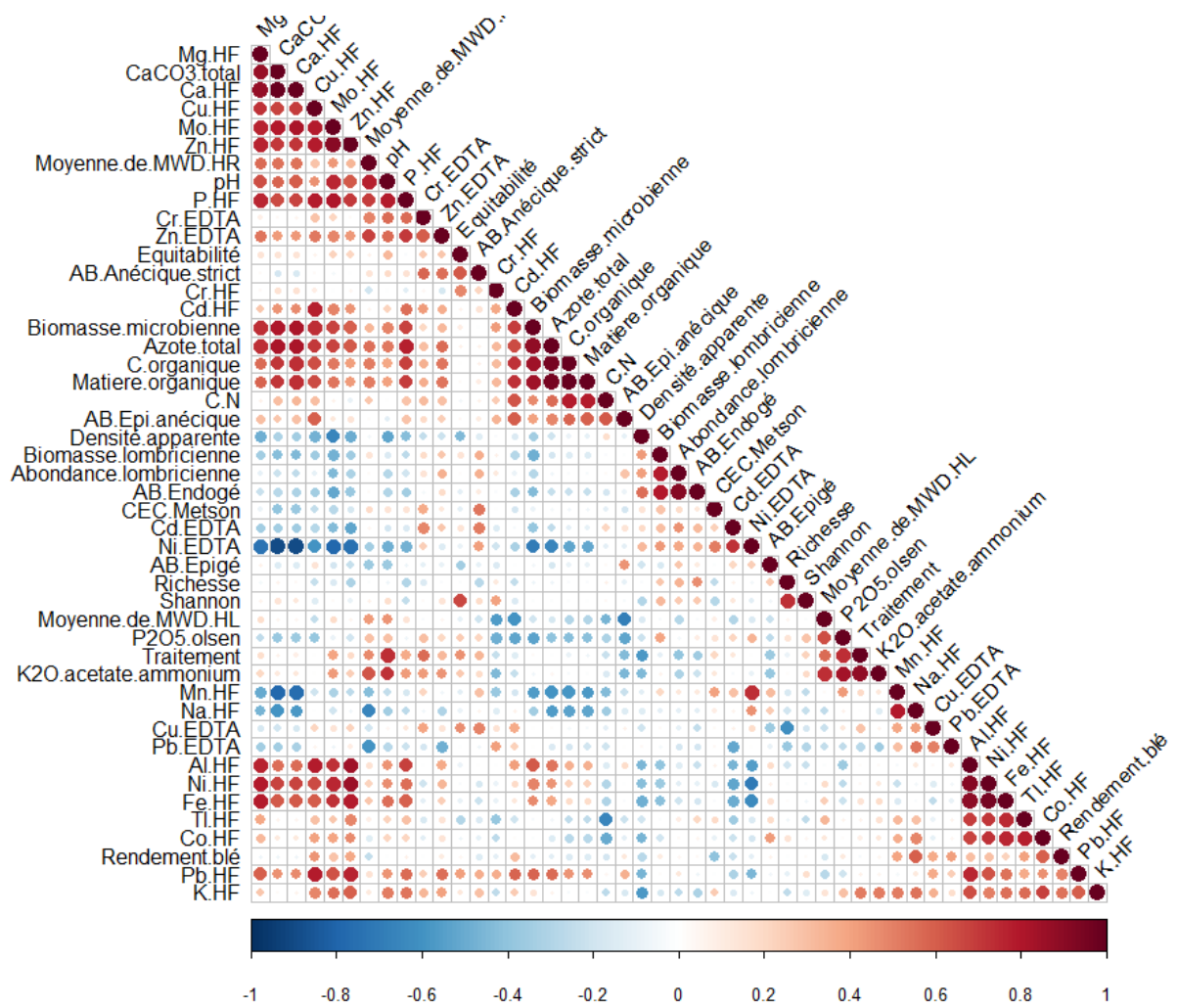
## Annexe 5

**Tableau 34** : Scores des indicateurs et sommes des scores (Total) par individu (placette) des composantes physique et biologique du chapitre 2.2.

Traitement	Placette	Composante Physique			Composante biologique								
		MWD réhumectation lente	MWD humectation rapide	Densité apparente	Total	Shannon lombricien	Biomasse lombricienne	Biomasse microbienne	Abon. épigé	Abon. épi-anécique	Abon. anécique strict	Abon. endogé	Total
<b>Mars</b>													
<b>Blé</b>	<b>1</b>	0.66	0.00	0.31	<b>0.97</b>	0.86	1.00	0.91	0.00	0.70	0.88	1.00	<b>5.35</b>
	<b>2</b>	0.39	0.15	0.00	<b>0.53</b>	0.67	0.84	1.00	0.38	1.00	0.65	0.72	<b>5.26</b>
	<b>3</b>	0.39	0.58	0.58	<b>1.55</b>	0.68	0.70	0.70	0.38	0.48	0.82	0.66	<b>4.44</b>
	<b>4</b>	0.37	0.61	0.55	<b>1.53</b>	0.76	0.80	0.64	0.15	0.21	0.24	0.97	<b>3.76</b>
<b>Miscanthus</b>	<b>1</b>	0.00	0.85	0.25	<b>1.10</b>	0.37	0.08	0.34	0.15	0.03	0.12	0.20	<b>1.29</b>
	<b>2</b>	0.21	0.34	0.58	<b>1.13</b>	0.00	0.12	0.16	0.77	0.00	0.24	0.00	<b>1.29</b>
	<b>3</b>	0.85	0.79	0.80	<b>2.43</b>	0.73	0.00	0.23	0.85	0.00	0.00	0.08	<b>1.88</b>
<b>Non-cultivé</b>	<b>1</b>	0.95	0.71	1.00	<b>2.66</b>	0.94	0.13	0.06	0.46	0.09	0.65	0.08	<b>2.40</b>
	<b>2</b>	1.00	1.00	0.67	<b>2.67</b>	1.00	0.98	0.00	1.00	0.09	1.00	0.26	<b>4.33</b>
	<b>3</b>	0.31	0.76	0.35	<b>1.42</b>	0.95	0.24	0.10	1.00	0.03	0.94	0.35	<b>3.61</b>
<b>Octobre</b>													
<b>Blé</b>	<b>1</b>	0.73	0.00	0.20	<b>0.93</b>	1.00	0.89	1.00	0.00	0.67	1.00	0.83	<b>5.38</b>
	<b>2</b>	0.49	0.09	0.23	<b>0.81</b>	0.83	0.45	0.84	0.00	0.24	0.37	0.57	<b>3.30</b>
	<b>3</b>	0.49	0.43	0.54	<b>1.46</b>	0.95	1.00	0.73	0.00	1.00	0.60	1.00	<b>5.29</b>
	<b>4</b>	0.44	0.31	0.55	<b>1.30</b>	0.95	0.96	0.71	0.00	0.71	0.30	0.86	<b>4.50</b>
<b>Miscanthus</b>	<b>1</b>	0.00	0.57	0.00	<b>0.57</b>	0.00	0.00	0.31	0.00	0.07	0.00	0.06	<b>0.45</b>
	<b>2</b>	0.55	0.82	0.41	<b>1.78</b>	0.39	0.29	0.20	0.00	0.05	0.17	0.00	<b>1.10</b>
	<b>3</b>	0.61	0.77	0.32	<b>1.71</b>	0.16	0.14	0.11	0.00	0.02	0.10	0.08	<b>0.62</b>
<b>Non-cultivé</b>	<b>1</b>	1.00	1.00	1.00	<b>3.00</b>	0.49	0.25	0.01	0.00	0.12	0.30	0.25	<b>1.42</b>
	<b>2</b>	0.80	0.91	0.46	<b>2.17</b>	0.35	0.33	0.00	0.00	0.00	0.27	0.21	<b>1.16</b>
	<b>3</b>	0.27	0.85	0.45	<b>1.56</b>	0.30	0.47	0.12	0.00	0.02	0.37	0.63	<b>1.92</b>

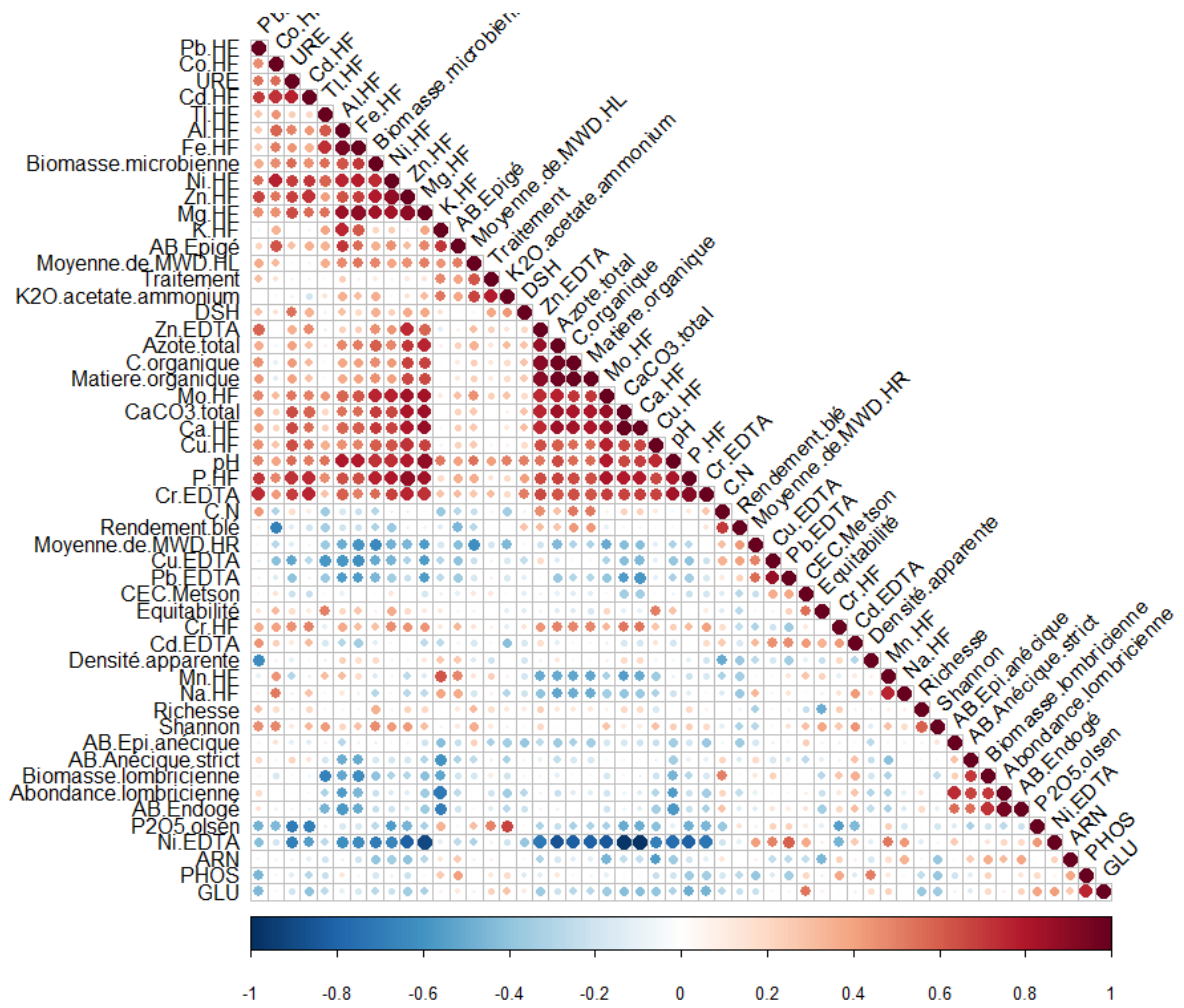


## Annexe 6



**Figure 42** : Matrice des corrélations de l'ensemble du jeu de données du mois de mars et du rendement en blé du mois de juillet

ANNEXES



**Figure 43 :** Matrice des corrélations de l'ensemble du jeu de données du mois d'octobre (12 mois après l'épandage) et du rendement en blé du mois de juillet

## Annexe 7

**Tableau 35** : Composition des produits apportés au moment de la culture de blé entre octobre 2018 et juillet 2019.

Fonction	Spécialité commerciale	Composition	Quantité épandue	Unité	Quantité d'apport	Mois de l'apport
<b>Azote</b>						
	Sulfan	12% Nitrate + 12% Ammonium + 18% SO <sub>3</sub>	210	kg ha <sup>-1</sup>	3	février mars mai
	Ammonitrate 33.5%	33.5% Azote total + 16.8% azote nitrique + 16.7% azote ammoniacale	80	unités	1	mars
	Ammonitrate 33.5%	33.5% Azote total + 16.8% azote nitrique + 16.7% azote ammoniacale	40	unités	1	mai
<b>Régulateur de croissance</b>						
	Cycocel C5	Chlormequat chlorure 460 g/l	2	kg ha <sup>-1</sup>	1	mars
<b>Insecticide</b>						
	Mandarin Pro	Esfenvalérate 50 g/l	0.125	kg ha <sup>-1</sup>	1	décembre
<b>Fongicide</b>						
	Cherokee	Chlorothalonil 375 g/l + propiconazole 62,5 g/l + cyproconazole 50 g/l	1.3	kg ha <sup>-1</sup>	1	mai
	Epopée	Tébuconazole 132,5 g/l + prochloraze 267,1 g/l	1.5	kg ha <sup>-1</sup>	1	mai
	Escapade	Alcool terpénique 665 g/l	0.2	kg ha <sup>-1</sup>	1	mai
<b>Dés herbant</b>						
	Barclay Gallup Super	Glyphosate sel d'isopropylamine	4	kg ha <sup>-1</sup>	1	août
	Chlorotocide EL	Chlorotoluron 500 g/l	3.4	kg ha <sup>-1</sup>	1	décembre
	Atlantis	Mésosulfuron 30 g/kg + iodosulfuron 6 g/kg	1	kg ha <sup>-1</sup>	1	décembre
	Adenda	Esters méthyliques d'acides gras, C16-C18 et C18 insaturés, 831 g/l	1	kg ha <sup>-1</sup>	1	décembre
	Actimum	Sulfate d'ammonium 460 g/l	0.5	kg ha <sup>-1</sup>	1	décembre
	Compil	Diflufénicanil 500 g/l	0.25	kg ha <sup>-1</sup>	1	décembre

## Annexe 8

**Tableau 36** : Scores des indicateurs et sommes des scores (Total) par individu (placette) de la composante agronomique et des métaux échangeables du mois de mars (chapitre 3.3).

Traitement (t ha <sup>-1</sup> )	Placette	Composante agronomique						Métaux échangeables						
		N <sub>tot</sub>	C <sub>org</sub>	pH	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Olsen	K <sub>2</sub> O échangeable	Ca total	Na total	Total	Cu disponible	Pb disponible	Zn disponible	Total
<b>Mars</b>														
<b>0</b>	<b>1</b>	0.73	0.70	0.37	1.00		0.88	0.87	1.00	<b>5.55</b>	0.25	0.87	0.00	<b>1.11</b>
	<b>2</b>	0.65	0.76	0.45	1.00		0.92	0.46	0.25	<b>4.49</b>	0.24	0.41	0.24	<b>0.89</b>
	<b>3</b>	0.15	0.09	0.88	0.90		1.00	0.03	0.25	<b>3.30</b>	0.27	0.41	0.95	<b>1.63</b>
	<b>4</b>	0.00	0.00	1.00	0.70		0.97	0.01	0.00	<b>2.69</b>	0.22	0.38	1.00	<b>1.60</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	0.65	0.52	0.22	1.00		0.73	0.88	0.50	<b>4.51</b>	0.24	0.00	0.98	<b>1.21</b>
	<b>2</b>	0.65	0.64	0.45	0.90		0.80	0.29	0.50	<b>4.23</b>	0.22	0.30	0.43	<b>0.95</b>
	<b>3</b>	0.38	0.45	0.90	0.50		0.74	0.00	0.50	<b>3.47</b>	0.18	0.40	0.92	<b>1.50</b>
	<b>4</b>	0.35	0.18	0.55	0.70		0.89	0.11	0.50	<b>3.27</b>	0.23	0.40	0.87	<b>1.50</b>
<b>2.5</b>	<b>1</b>	1.00	1.00	0.20	0.40		0.55	1.00	0.50	<b>4.66</b>	1.00	NA	0.65	<b>1.65</b>
	<b>2</b>	0.35	0.33	0.29	0.80		0.76	0.25	0.25	<b>3.03</b>	0.26	0.44	0.86	<b>1.56</b>
	<b>3</b>	0.15	0.12	0.49	0.60		0.69	0.08	0.25	<b>2.38</b>	0.25	0.45	0.94	<b>1.63</b>
	<b>4</b>	0.27	0.18	0.49	0.30		0.59	0.05	0.25	<b>2.13</b>	0.22	0.43	0.40	<b>1.05</b>
<b>5</b>	<b>1</b>	0.62	0.58	0.10	0.60		0.49	0.83	0.75	<b>3.96</b>	0.30	1.00	0.55	<b>1.85</b>
	<b>2</b>	0.54	0.39	0.18	0.60		0.53	0.42	0.00	<b>2.66</b>	0.00	0.27	0.19	<b>0.46</b>
	<b>3</b>	0.23	0.21	0.16	0.20		0.40	0.06	0.50	<b>1.76</b>	0.14	0.27	0.60	<b>1.01</b>
	<b>4</b>	0.38	0.30	0.00	0.00		0.00	0.40	0.50	<b>5.59</b>	0.29	0.89	0.04	<b>1.22</b>

## ANNEXE 9

**Tableau 37** : Scores des indicateurs et sommes des scores (Total) par individu (placette) de la composante agronomique et des métaux échangeables du mois d'octobre (chapitre 3.3).

Traitement (t ha <sup>-1</sup> )	Placette	Composante agronomique						Métaux échangeables					
		N <sub>tot</sub>	C <sub>org</sub>	pH	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Olsen	K <sub>2</sub> O échangeable	Ca total	Na total	Total	Cu disponible	Pb disponible	Zn disponible	Total
<b>Octobre</b>													
<b>0</b>	<b>1</b>	0.43	0.40	0.22	0.89	0.85	1.00	0.65	<b>4.44</b>	1.00	1.00	0.73	<b>2.73</b>
	<b>2</b>	0.33	0.40	0.27	0.96	0.83	0.40	0.30	<b>3.50</b>	0.49	0.30	0.79	<b>1.58</b>
	<b>3</b>	0.00	0.08	0.57	0.87	1.00	0.05	0.30	<b>2.88</b>	0.35	0.31	1.00	<b>1.66</b>
	<b>4</b>	0.10	0.20	0.63	0.54	0.82	0.08	0.52	<b>2.89</b>	0.18	0.16	0.93	<b>1.26</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	0.62	0.72	0.25	0.85	0.76	0.85	0.73	<b>4.78</b>	0.55	0.88	0.68	<b>2.10</b>
	<b>2</b>	0.14	0.16	0.30	0.96	0.72	0.33	0.65	<b>3.27</b>	0.57	0.22	0.86	<b>1.65</b>
	<b>3</b>	0.05	0.12	1.00	0.76	0.85	0.00	0.47	<b>3.26</b>	0.35	0.34	0.97	<b>1.66</b>
	<b>4</b>	0.43	0.36	0.35	0.61	0.60	0.22	0.70	<b>3.28</b>	0.55	0.50	0.92	<b>1.97</b>
<b>2.5</b>	<b>1</b>	1.00	1.00	0.14	0.94	0.66	0.93	0.93	<b>5.60</b>	0.00	0.00	0.00	<b>0.00</b>
	<b>2</b>	0.10	0.16	0.24	0.93	0.76	0.25	0.42	<b>2.86</b>	0.31	0.09	0.82	<b>1.22</b>
	<b>3</b>	0.00	0.00	0.56	0.48	0.53	0.05	0.52	<b>2.14</b>	0.31	0.17	0.96	<b>1.44</b>
	<b>4</b>	0.05	0.12	0.37	0.31	0.59	0.11	0.73	<b>2.28</b>	0.43	0.14	0.96	<b>1.53</b>
<b>5</b>	<b>1</b>	0.52	0.44	0.00	0.80	0.31	0.66	0.17	<b>2.91</b>	0.82	0.78	0.70	<b>2.30</b>
	<b>2</b>	0.33	0.52	0.30	0.80	0.57	0.38	0.60	<b>3.50</b>	0.45	0.30	0.60	<b>1.35</b>
	<b>3</b>	0.00	0.08	0.41	0.52	0.63	0.06	0.00	<b>1.70</b>	0.16	0.05	0.90	<b>1.11</b>
	<b>4</b>	0.52	0.44	0.13	0.00	0.00	0.43	1.00	<b>2.53</b>	0.55	0.61	0.78	<b>1.94</b>

## Annexe 10

**Tableau 38** : Scores des indicateurs et sommes des scores (Total) par individu (placette) des métaux totaux du mois de mars (chapitre 3.3).

Traitement	Placette	Métaux totaux													
		Cd total	Mo total	Pb total	Tl total	Cr total	Co total	Cu total	Ni total	Zn total	Al total	Fe total	Mg total	Mn total	Total
<b>Mars</b>															
<b>0</b>	<b>1</b>	0.50	0.56	0.41	0.60	0.18	0.57	0.59	0.32	0.42	0.42	0.43	0.00	1.00	<b>6.00</b>
	<b>2</b>	0.00	0.56	0.18	0.40	0.24	0.14	0.27	0.43	0.58	0.15	0.33	0.25	0.25	<b>3.78</b>
	<b>3</b>	1.00	0.89	0.76	0.40	0.34	0.14	0.91	0.43	0.81	0.36	0.38	0.50	0.11	<b>7.04</b>
	<b>4</b>	0.75	1.00	0.88	0.40	0.54	0.14	0.91	0.54	0.95	0.67	0.62	1.00	0.17	<b>8.58</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	0.50	0.11	0.18	0.20	0.06	0.14	0.45	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.80	<b>2.45</b>
	<b>2</b>	0.50	0.78	0.47	0.40	0.20	0.57	0.82	0.46	0.70	0.27	0.48	0.50	0.34	<b>6.49</b>
	<b>3</b>	0.75	1.00	1.00	1.00	0.31	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.39	<b>11.45</b>
	<b>4</b>	1.00	0.89	0.71	0.00	0.29	0.29	0.86	0.43	0.74	0.42	0.33	0.50	0.22	<b>6.68</b>
<b>2.5</b>	<b>1</b>	0.00	0.00	NA	0.40	0.04	0.43	0.00	0.25	0.15	0.24	0.43	0.00	0.66	<b>2.59</b>
	<b>2</b>	0.50	0.67	0.65	0.60	0.00	0.29	0.86	0.54	0.64	0.52	0.38	0.75	0.41	<b>6.79</b>
	<b>3</b>	1.00	1.00	0.88	0.20	0.54	0.43	0.86	0.57	0.77	0.48	0.43	0.50	0.30	<b>7.97</b>
	<b>4</b>	1.00	0.89	0.12	0.20	0.07	0.14	0.86	0.43	0.66	0.42	0.43	0.50	0.19	<b>5.91</b>
<b>5</b>	<b>1</b>	0.75	0.44	0.71	0.60	0.27	0.43	0.73	0.39	0.69	0.42	0.29	0.00	0.73	<b>6.44</b>
	<b>2</b>	0.25	0.22	0.00	0.20	0.34	0.14	0.41	0.25	0.09	0.03	0.29	0.25	0.00	<b>2.47</b>
	<b>3</b>	0.75	0.78	0.71	0.80	0.15	0.57	0.91	0.82	0.93	0.85	0.76	0.75	0.25	<b>9.02</b>
	<b>4</b>	1.00	0.33	0.65	0.00	1.00	0.00	0.73	0.21	0.40	0.27	0.14	0.25	0.16	<b>5.14</b>

## Annexe 11

**Tableau 39** : Scores des indicateurs et sommes des scores (Total) par individu (placette) des métaux totaux du mois d'octobre (chapitre 3.3).

Traitement	Placette	Métaux totaux												Total	
		Cd total	Mo total	Pb total	Tl total	Cr total	Co total	Cu total	Ni total	Zn total	Al total	Fe total	Mg total		Mn total
<b>Octobre</b>															
<b>0</b>	<b>1</b>	0.00	0.19	0.67	0.06	0.12	0.60	0.39	0.31	0.23	0.71	0.50	0.08	0.86	<b>4.71</b>
	<b>2</b>	0.08	0.61	0.58	0.29	0.69	0.80	0.61	0.69	0.45	0.86	0.93	0.41	0.46	<b>7.45</b>
	<b>3</b>	0.76	0.54	0.79	0.00	0.65	0.80	0.61	0.69	0.70	1.11	0.93	0.67	0.19	<b>8.44</b>
	<b>4</b>	0.80	0.99	0.96	0.63	0.67	1.20	0.72	1.54	0.79	1.18	1.14	0.62	0.37	<b>11.60</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	0.52	0.30	0.88	0.57	0.11	1.00	0.28	0.54	0.45	0.71	0.79	0.26	0.74	<b>7.14</b>
	<b>2</b>	0.12	0.54	0.54	0.37	0.36	0.20	0.39	0.15	0.20	1.00	0.79	0.36	0.63	<b>5.65</b>
	<b>3</b>	0.68	1.00	1.00	1.00	0.28	1.20	1.00	1.77	1.00	1.82	2.14	1.00	0.77	<b>14.66</b>
	<b>4</b>	0.76	0.69	0.88	0.14	0.09	1.00	0.56	0.85	0.54	0.82	0.57	0.38	0.44	<b>7.70</b>
<b>2.5</b>	<b>1</b>	0.12	0.00	0.42	0.60	0.08	1.00	0.00	0.38	0.00	1.04	0.93	0.18	1.00	<b>5.74</b>
	<b>2</b>	0.16	0.54	0.54	0.31	0.51	0.80	0.00	1.00	0.60	1.21	1.36	0.57	0.65	<b>8.25</b>
	<b>3</b>	0.68	0.55	0.96	0.31	0.93	0.80	0.67	1.00	0.64	1.29	1.36	0.64	0.25	<b>10.06</b>
	<b>4</b>	0.60	0.65	0.96	0.31	1.00	1.00	0.56	1.00	0.60	1.00	1.00	0.56	0.47	<b>9.71</b>
<b>5</b>	<b>1</b>	0.00	0.24	0.50	0.03	0.00	0.00	0.28	0.00	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00	<b>1.24</b>
	<b>2</b>	0.28	0.48	0.00	0.31	0.33	0.80	0.61	0.77	0.36	1.11	1.14	0.43	0.53	<b>7.15</b>
	<b>3</b>	0.36	0.75	0.83	0.71	0.10	0.60	0.83	0.92	0.70	1.00	1.29	0.67	0.09	<b>8.86</b>
	<b>4</b>	1.00	0.39	0.96	0.34	0.85	1.40	0.56	1.23	0.61	0.96	0.86	0.39	0.77	<b>10.33</b>

## Annexe 12

**Tableau 40** : Scores des indicateurs et sommes des scores (Total) par individu (placette) des composantes physique et biologique du mois de mars (5 mois après l'épandage des cendres de Miscanthus, chapitre 3.3)

Traitement	Placette	Composante Physique			Composante biologique								
		MWD réhumectation lente	MWD humectation rapide	Densité apparente	Total	Shannon lombricien	Biomasse lombricienne	Biomasse microbienne	Abon. épigé	Abon. épi-anécique	Abon. anécique strict	Abon. endogé	Total
<b>Mars</b>													
<b>0</b>	<b>1</b>	0.23	0.93	0.09	<b>1.25</b>	0.49	0.56	0.67	0.00	0.64	0.74	0.86	<b>3.97</b>
	<b>2</b>	0.00	0.54	0.62	<b>1.17</b>	0.74	0.37	0.88	1.00	1.00	0.53	0.47	<b>4.98</b>
	<b>3</b>	0.34	0.01	0.63	<b>0.98</b>	0.26	0.20	0.16	1.00	0.39	0.68	0.39	<b>3.10</b>
	<b>4</b>	0.35	0.00	0.10	<b>0.45</b>	0.53	0.32	0.00	0.40	0.07	0.16	0.82	<b>2.30</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	0.55	0.44	0.75	<b>1.74</b>	0.29	0.04	1.00	0.00	0.32	0.00	0.00	<b>1.65</b>
	<b>2</b>	0.43	0.58	0.00	<b>1.01</b>	0.59	0.47	0.83	0.00	0.11	0.74	0.68	<b>3.41</b>
	<b>3</b>	0.24	0.37	0.22	<b>0.83</b>	0.00	0.52	0.19	0.00	0.50	0.42	0.24	<b>1.87</b>
	<b>4</b>	0.48	0.48	0.34	<b>1.30</b>	0.50	0.61	0.17	0.40	0.36	0.26	1.00	<b>3.30</b>
<b>2.5</b>	<b>1</b>	0.58	0.65	0.34	<b>1.57</b>	1.00	1.00	0.36	0.40	0.43	0.95	0.91	<b>5.05</b>
	<b>2</b>	0.12	0.47	0.37	<b>0.96</b>	0.64	0.33	0.39	0.00	0.21	0.53	0.36	<b>2.47</b>
	<b>3</b>	0.58	0.65	0.14	<b>1.38</b>	0.73	0.27	0.27	0.20	0.21	0.47	0.30	<b>2.46</b>
	<b>4</b>	0.34	0.45	0.59	<b>1.38</b>	0.85	0.90	0.22	0.20	0.25	0.89	0.98	<b>4.30</b>
<b>5</b>	<b>1</b>	0.59	0.77	0.94	<b>2.29</b>	0.66	0.00	0.98	0.40	0.29	0.42	0.15	<b>2.90</b>
	<b>2</b>	0.24	0.44	1.00	<b>1.69</b>	0.76	0.15	0.69	0.00	0.39	1.00	0.02	<b>3.01</b>
	<b>3</b>	0.69	0.60	0.57	<b>1.86</b>	0.53	0.58	0.21	0.00	0.18	0.84	0.50	<b>2.85</b>
	<b>4</b>	1.00	1.00	0.64	<b>2.64</b>	0.51	0.48	0.14	0.20	0.00	0.42	0.55	<b>2.30</b>



## Annexe 13

**Tableau 41** : Scores des indicateurs et sommes des scores (Total) par individu (placette) des composantes physique et biologique du mois d'octobre (12 mois après l'épandage des cendres de Miscanthus, chapitre 3.3).

Traitement	Placette	Composante Physique			Composante biologique								
		MWD réhumectation lente	MWD humectation rapide	Densité apparente	Total	Shannon lombricien	Biomasse lombricienne	Biomasse microbienne	Abon. épigé	Abon. épi-anécique	Abon. anécique strict	Abon. endogé	Total
<b>Octobre</b>													
<b>0</b>	<b>1</b>	0,45	0,21	1,00	<b>1,66</b>	0,31	0,25	1,00	0,00	1,00	1,00	0,63	<b>4,19</b>
	<b>2</b>	0,00	0,86	0,71	<b>1,57</b>	0,69	0,00	0,60	0,00	0,71	0,71	0,42	<b>3,11</b>
	<b>3</b>	0,49	0,43	0,66	<b>1,58</b>	0,00	0,31	0,31	0,00	0,03	0,00	0,17	<b>0,82</b>
	<b>4</b>	0,45	0,62	0,72	<b>1,79</b>	0,93	0,29	0,26	0,00	0,56	0,18	0,00	<b>2,21</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	0,16	0,32	0,83	<b>1,32</b>	0,69	0,75	0,62	0,00	0,85	0,53	0,72	<b>4,17</b>
	<b>2</b>	0,67	0,27	0,56	<b>1,50</b>	0,09	0,40	0,87	0,00	0,74	0,88	0,58	<b>3,57</b>
	<b>3</b>	0,07	0,60	0,85	<b>1,52</b>	0,38	1,00	0,00	0,00	0,56	0,41	1,00	<b>3,35</b>
	<b>4</b>	0,38	0,19	0,75	<b>1,32</b>	0,25	0,00	0,73	0,00	0,00	0,71	0,40	<b>2,08</b>
<b>2.5</b>	<b>1</b>	0,62	0,33	0,79	<b>1,74</b>	0,31	0,34	0,85	0,00	0,32	0,59	0,05	<b>2,47</b>
	<b>2</b>	0,28	1,00	0,49	<b>1,77</b>	0,55	0,43	0,51	0,00	0,06	0,53	0,30	<b>2,38</b>
	<b>3</b>	0,34	0,22	0,91	<b>1,47</b>	0,82	0,29	0,83	0,00	0,06	0,35	0,23	<b>2,59</b>
	<b>4</b>	0,30	0,61	0,65	<b>1,56</b>	0,47	0,14	0,15	0,00	0,50	0,59	0,43	<b>2,29</b>
<b>5</b>	<b>1</b>	1,00	0,00	0,95	<b>1,95</b>	0,57	0,16	0,99	0,00	0,47	0,41	0,27	<b>2,87</b>
	<b>2</b>	0,74	0,40	0,00	<b>1,13</b>	0,38	0,69	0,50	1,00	0,24	0,35	0,83	<b>4,00</b>
	<b>3</b>	0,43	0,67	0,91	<b>2,02</b>	0,04	0,48	0,24	0,00	0,18	0,65	0,03	<b>1,62</b>
	<b>4</b>	0,95	0,23	0,72	<b>1,91</b>	1,00	0,26	0,75	0,00	0,50	0,24	0,17	<b>2,91</b>





---

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- ABIVEN, S., MENASSERI, S., ANGERS, D. A. & LETERME, P. 2007. Dynamics of aggregate stability and biological binding agents during decomposition of organic materials. *European Journal of Soil Science*, 58, 239-247.
- ADEME. 2016. Évaluation des performances énergétiques et environnementales de chaufferie biomasse. *Campagne de mesure 2016*.
- ADRIANO, D. C. & WEBER, J. T. 2001. Influence of fly ash on soil physical properties and turfgrass establishment. *Journal of environmental quality*, 30, 596-601.
- AEBIOM. 2017. Statistical report. *Full report*. Brussels: AEBIOM.
- AGENCY, E. E. 2019. The European Environment - state and outlook 2020. Knowledge for transition to a sustainable Europe. Luxembourg: Publications Office of the European Union.
- AGGELIDES, S. M. & LONDRA, P. A. 2000. Effects of compost produced from town wastes and sewage sludge on the physical properties of a loamy and a clay soil. *Bioresource technology*, 71, 253-259.
- AGRELA, F., CABRERA, M., MORALES, M. M., ZAMORANO, M. & ALSHAAER, M. 2019. 2 - Biomass fly ash and biomass bottom ash. In: DE BRITO, J. & AGRELA, F. (eds.) *New Trends in Eco-efficient and Recycled Concrete*. Woodhead Publishing.
- AL MAJOU, H., KABA, R., ALMESBER, W. & BRUAND, A. 2016. Validité de l'estimation des propriétés de rétention en eau de sols syriens à partir de fonctions et classes de pédotransfert développées pour des sols français.
- AL SOUKI, K. S., LINÉ, C., LOUVEL, B., WATERLOT, C., DOUAY, F. & POURRUT, B. 2020. *Miscanthus x giganteus* culture on soils highly contaminated by metals: Modelling leaf decomposition impact on metal mobility and bioavailability in the soil-plant system. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 199, 110654.
- AL SOUKI, K. S., LOUVEL, B., DOUAY, F. & POURRUT, B. 2017. Assessment of *Miscanthus x giganteus* capacity to restore the functionality of metal-contaminated soils: Ex situ experiment. *Applied Soil Ecology*, 115, 44-52.
- AMEZKETA, E. 1999. Soil Aggregate Stability: A Review. *Journal of Sustainable Agriculture*, 14, 83-151.
- AMEZKETA, E., SINGER, M. J. & LE BISSONNAIS, Y. 1996. Testing a new procedure for measuring water - stable aggregation. *Soil Science Society of America Journal*, 60, 888-894.
- AMÉZKETA, E. & ARAGÜÉS LAFARGA, R. 1995. Flocculation-dispersion behaviour of arid-zone soil clays as affected by electrolyte concentration and composition.
- ANDERSON, T.-H. & DOMSCH, K. H. 1989. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. *Soil biology and biochemistry*, 21, 471-479.
- ANDREWS, S. S., KARLEN, D. L. & CAMBARDELLA, C. A. 2004. The soil management assessment framework. *Soil Science Society of America Journal*, 68, 1945-1962.
- ANDREWS, S. S., KARLEN, D. L. & MITCHELL, J. P. 2002a. A comparison of soil quality indexing methods for vegetable production systems in Northern California. *Agriculture, ecosystems & environment*, 90, 25-45.
- ANDREWS, S. S., MITCHELL, J. P., MANCINELLI, R., KARLEN, D. L., HARTZ, T. K., HORWATH, W. R., PETTYGROVE, G. S., SCOW, K. M. & MUNK, D. S. 2002b. On-farm assessment of soil quality in California's central valley. *Agronomy Journal*, 94, 12-23.
- ANDRIUZZI, W. S., PULLEMAN, M. M., CLUZEAU, D. & PÉRÈS, G. 2017. Comparison of two widely used sampling methods in assessing earthworm community responses to agricultural intensification. *Applied Soil Ecology*, 119, 145-151.
- ANTONI, V., ARROUAYS, D., BISPO, A., BROSSARD, M., LE BAS, C., STENGEL, P., VILLANNEAU, E., BAIZE, D., BLANCA, Y. & BOULONNE, L. 2013. The state of the soils in France in 2011-A synthesis. Groupement d'Intérêt Scientifique sur les Sols.
- ARNOULT, S. & BRANCOURT-HULMEL, M. 2015. A review on miscanthus biomass production and composition for bioenergy use: genotypic and environmental variability and implications for breeding. *BioEnergy Research*, 8, 502-526.
- ARONSSON, K. A. & EKELUND, N. G. A. 2004. Biological effects of wood ash application to forest and aquatic ecosystems. *Journal of Environmental Quality*, 33, 1595-1605.

- AUBERT, C., BIZOT, E., BOUTIN, A., GLACHANT, C., MONTIN, C., PAPIN, A., PECQUET, T., PIAUD, S., PROFFIT, L. & ROYER, L. 2006. Agronomie: des références pour raisonner sa fertilisation. Chambre d'agriculture de Seine-et-Marne.
- AUGUSTO, L., BAKKER, M. R. & MEREDIEU, C. 2008. Wood ash applications to temperate forest ecosystems—potential benefits and drawbacks. *Plant and Soil*, 306, 181-198.
- BAIZE, D. 1994. Teneurs totales en métaux lourds dans les sols français.
- BAIZE, D. 2003. Etude des sols d'un secteur de TRIEL sur Seine - Chanteloup les Vignes et Carrières sous Poissy (Yvelines) et de leurs teneurs en Cadmium, Cuivre, Plomb et Zinc. INRA.
- BAIZE, D. 2009. Éléments traces dans les sols. Fonds géochimiques, fonds pédogéochimiques naturels et teneurs agricoles habituelles: définitions et utilités.
- BAKER, G. H., CARTER, P. J., CURRY, J. P., CULTRERI, O. & BECK, A. 1998. Clay content of soil and its influence on the abundance of *Aporrectodea trapezoides* Duges (Lumbricidae). *Applied Soil Ecology*, 9, 333-337.
- BALLOY, B., BISPO, A., BOUTHIER, A., CHENU, C., CLUZEAU, D., DEGAN, F. & METZGER, L. 2017. Tour d'horizon des indicateurs relatifs à l'état organique et biologique des sols.
- BANG-ANDREASEN, T., NIELSEN, J. T., VORISKOVA, J., HEISE, J., RØNN, R., KJØLLER, R., HANSEN, H. C. B. & JACOBSEN, C. S. 2017. Wood ash induced pH changes strongly affect soil bacterial numbers and community composition. *Frontiers in microbiology*, 8, 1400.
- BARBOSA, B., BOLÉO, S., SIDELLA, S., COSTA, J., DUARTE, M. P., MENDES, B., COSENTINO, S. L. & FERNANDO, A. L. 2015. Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils using the perennial energy crops *Miscanthus spp.* and *Arundo donax L.* *BioEnergy Research*, 8, 1500-1511.
- BART, S., AMOSSÉ, J., LOWE, C. N., MOUGIN, C., PÉRY, A. R. R. & PELOSI, C. 2018. *Aporrectodea caliginosa*, a relevant earthworm species for a posteriori pesticide risk assessment: current knowledge and recommendations for culture and experimental design. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 33867-33881.
- BART, S., BARRAUD, A., AMOSSÉ, J., PÉRY, A. R. R., MOUGIN, C. & PELOSI, C. 2019a. Effects of two common fungicides on the reproduction of *Aporrectodea caliginosa* in natural soil. *Ecotoxicology and environmental safety*, 181, 518-524.
- BART, S., PELOSI, C. & PÉRY, A. R. R. 2019b. Towards a better understanding of the life cycle of the earthworm *Aporrectodea caliginosa*: new data and energy-based modelling. *Pedobiologia*, 77, 150592.
- BASTARDIE, F., CAPOWIEZ, Y., RENAULT, P. & CLUZEAU, D. 2005. A radio-labelled study of earthworm behaviour in artificial soil cores in term of ecological types. *Biology and Fertility of Soils*, 41, 320-327.
- BAXTER, X. C., DARVELL, L. I., JONES, J. M., BARRACLOUGH, T., YATES, N. E. & SHIELD, I. 2012. Study of *Miscanthus x giganteus* ash composition—Variation with agronomy and assessment method. *Fuel*, 95, 50-62.
- BAXTER, X. C., DARVELL, L. I., JONES, J. M., BARRACLOUGH, T., YATES, N. E. & SHIELD, I. 2014. Miscanthus combustion properties and variations with Miscanthus agronomy. *Fuel*, 117, 851-869.
- BEGUIRISTAIN, T., RAOULT, N. & LEYVAL, C. 2012. Programme ADEME Bioindicateur - Phase 2. Rapport final - Site GISFI. ADEME.
- BELLAMY, P. E., CROXTON, P. J., HEARD, M. S., HINSLEY, S. A., HULMES, L., HULMES, S., NUTTALL, P., PYWELL, R. F. & ROTHERY, P. 2009. The impact of growing miscanthus for biomass on farmland bird populations. *Biomass and Bioenergy*, 33, 191-199.
- BEYLICH, A., OBERHOLZER, H.-R., SCHRADER, S., HÖPER, H. & WILKE, B.-M. 2010. Evaluation of soil compaction effects on soil biota and soil biological processes in soils. *Soil and Tillage Research*, 109, 133-143.
- BIDAR, G., DETRICHE, S., DOUAY, F., FOURRIER, H., LOUVEL, B., PELFRENE, A., POURRUT, B., NSANGANWIMANA, F., PRUVOT, C. & WATERLOT, C. 2015. Synthesis of the PHYTENER project.

- Development of phyto-remediation on soils contaminated by metals for energy purposes: ecologic viability, social interest and economic assessment. Synthesis.
- BIDAR, G., WATERLOT, C., VERDIN, A., PROIX, N., COURCOT, D., DÉTRICHÉ, S., FOURRIER, H., RICHARD, A. & DOUAY, F. 2016. Sustainability of an in situ aided phytostabilisation on highly contaminated soils using fly ashes: Effects on the vertical distribution of physicochemical parameters and trace elements. *Journal of environmental management*, 171, 204-216.
- BIEDERMANN, F. & OBERNBERGER, I. Ash-related problems during biomass combustion and possibilities for a sustainable ash utilisation. 2005. Elsevier BV, 120-124.
- BILIAS, F. & BARBAYIANNIS, N. 2019. Potassium availability: An approach using thermodynamic parameters derived from quantity-intensity relationships. *Geoderma*, 338, 355-364.
- BIOMASSE, R. 2013. Fiche culture - Le Miscanthus.
- BISPO, A., CLUZEAU, D., CREAMER, R., DOMBOS, M., GRAEFE, U., KROGH, P. H., SOUSA, J. P., PERES, G., RUTGERS, M. & WINDING, A. 2009a. Indicators for monitoring soil biodiversity. *Integrated environmental assessment and management*, 5, 717-719.
- BISPO, A., GRAND, C. & GALSOMIES, L. 2009b. Le programme ADEME "Bioindicateurs de qualité des sols". *Étude Gest Sols*, 16, 145-158.
- BISPO, A., JOLIVET, C., RANJARD, L., CLUZEAU, D., HEDDE, M. & PÉRÈS, G. 2017. Mise en place d'outils et de bio-indicateurs pertinents de la qualité des sols. *Les sols et la vie souterraine: Des enjeux majeurs en agroécologie*, 175-206.
- BISPO, A., PÉRÈS, G., CLUZEAU, D., GRAEFE, U., RÖMBKE, J., RUTGERS, M., FUCHS, M., SOUSA, J. P., SCHULTE, R. & DOMBOS, M. 2007. ENVASSO (ENVironmental ASsessment of SOil for monitoring) WP 5—Decline in soil biodiversity. *EU Contract*, 22.
- BLANCHARD, M., COULIBALY, K., BOGNINI, S., DUGUÉ, P. & VALL, É. 2014. Diversité de la qualité des engrais organiques produits par les paysans d'Afrique de l'Ouest: quelles conséquences sur les recommandations de fumure?
- BLOUIN, M., HODSON, M. E., DELGADO, E. A., BAKER, G., BRUSSAARD, L., BUTT, K. R., DAI, J., DENDOOVEN, L., PÉRÈS, G. & TONDOH, J. E. 2013. A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. *European Journal of Soil Science*, 64, 161-182.
- BOOTH, L. H., HEPPELTHWAITE, V. J. & O'HALLORAN, K. 2000. Growth development and fecundity of the earthworm *Aporrectodea caliginosa* after exposure to two organophosphates. *New Zealand Plant Protection*, 53, 221-225.
- BOSSUYT, H., DENEFF, K., SIX, J., FREY, S. D., MERCKX, R. & PAUSTIAN, K. 2001. Influence of microbial populations and residue quality on aggregate stability. *Applied Soil Ecology*, 16, 195-208.
- BOTTINELLI, N., ANGERS, D. A., HALLAIRE, V., MICHOT, D., LE GUILLOU, C., CLUZEAU, D., HEDDADJ, D. & MENASSERI-AUBRY, S. 2017. Tillage and fertilization practices affect soil aggregate stability in a Humic Cambisol of Northwest France. *Soil and Tillage Research*, 170, 14-17.
- BOUCHÉ, M. B. 1971. Relations entre les structures spatiales et fonctionnelles des écosystèmes, illustrées par le rôle pédobiologique des vers de terre. *Pesson, Paul La Vie dans le Sols; Aspects Nouveaux, Etudes Experimentales*.
- BOUCHÉ, M. B. 1972. Lombriciens de France: écologie et systématique.
- BOUCHÉ, M. B. 1977. Strategies lombriciennes. *Ecological Bulletins*, 122-132.
- BOULDAY, D. & MARCOVECCHIO, F. 2016a. Management methods ash from combustion of biomass. Review of productions and associated methods. Extended abstract.
- BOULDAY, D. & MARCOVECCHIO, F. 2016b. RECORD. Valorisation des cendres issues de la combustion de biomasse. *Revue des gisements et des procédés associés*.
- BOURGEOIS, E., DEQUIEDT, S., LELIÈVRE, M., VAN OORT, F., LAMY, I., MARON, P.-A. & RANJARD, L. 2015a. Positive effect of the Miscanthus bioenergy crop on microbial diversity in wastewater-contaminated soil. *Environmental chemistry letters*, 13, 495-501.
- BOURGEOIS, E., DEQUIEDT, S., LELIÈVRE, M., VAN OORT, F., LAMY, I., RANJARD, L. & MARON, P. A. 2015b. Miscanthus bioenergy crop stimulates nutrient-cycler bacteria and fungi in wastewater-contaminated agricultural soil. *Environmental Chemistry Letters*, 13, 503-511.

- BOYLE, K. E. 1990. The ecology of earthworms (Lumbricidae) in grassland on reclaimed cutover peatland and their impact on soil physical properties and grass yield. *Unpublished Ph. D. thesis, National University of Ireland. Cited in Edwards, CA (ed) Earthworm Ecology. St. Lucie Press, Boca Raton, 37-64.*
- BRAMI, C., GLOVER, A. R., BUTT, K. R. & LOWE, C. N. 2017a. Avoidance, biomass and survival response of soil dwelling (endogeic) earthworms to OECD artificial soil: potential implications for earthworm ecotoxicology. *Ecotoxicology*, 26, 576-579.
- BRAMI, C., GLOVER, A. R., BUTT, K. R. & LOWE, C. N. 2017b. Effects of silver nanoparticles on survival, biomass change and avoidance behaviour of the endogeic earthworm *Allolobophora chlorotica*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 141, 64-69.
- BRAMI, C., LOWE, C. N., MENASSERI, S., JACQUET, T. & PÉRÈS, G. 2020. Multi-parameter assessment of soil quality under *Miscanthus x giganteus* crop at marginal sites in Île-de-France. *Biomass and Bioenergy*, 142, 105793.
- BRENNAN, E. B. & ACOSTA-MARTINEZ, V. 2017. Cover cropping frequency is the main driver of soil microbial changes during six years of organic vegetable production. *Soil Biology and Biochemistry*, 109, 188-204.
- BRIONES, M. J. I. & SCHMIDT, O. 2017. Conventional tillage decreases the abundance and biomass of earthworms and alters their community structure in a global meta - analysis. *Global Change Biology*, 23, 4396-4419.
- BRONICK, C. J. & LAL, R. 2005. Soil structure and management: a review. *Geoderma*, 124, 3-22.
- BROOKES, P. C. & MCGRATH, S. P. 1984. Effect of metal toxicity on the size of the soil microbial biomass. *Journal of soil science*, 35, 341-346.
- BUSMAN, L., LAMB, J., RANDALL, G., REHM, G. & SCHMITT, M. 2002. The nature of phosphorus in soils.
- BUTT, K. R., BRIONES, M. J. I. & LOWE, C. N. 2009. Is tagging with visual implant elastomer a reliable technique for marking earthworms? *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44, 969-974.
- BUTT, K. R. & BRIONES, M. J. I. 2017. Earthworms and mesofauna from an isolated, alkaline chemical waste site in Northwest England. *European Journal of Soil Biology*, 78, 43-49.
- BUTT, K. R. & LOWE, C. N. 2007. A viable technique for tagging earthworms using visible implant elastomer. *Applied Soil Ecology*, 35, 454-457.
- BUTT, K. R. & LOWE, C. N. 2011. Controlled cultivation of endogeic and anecic earthworms. *Biology of earthworms*. Springer.
- BYRNE, M. & STONE, L. 2011. The need for 'duty of care' when introducing new crops for sustainable agriculture. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 3, 50-54.
- BÖHME, L. & BÖHME, F. 2006. Soil microbiological and biochemical properties affected by plant growth and different long-term fertilisation. *European Journal of Soil Biology*, 42, 1-12.
- BÜNEMANN, E. K., BONGIORNO, G., BAI, Z., CREAMER, R. E., DE DEYN, G., DE GOEDE, R., FLESKENS, L., GEISSEN, V., KUYPER, T. W. & MÄDER, P. 2018. Soil quality – A critical review. *Soil Biology and Biochemistry*, 120, 105-125.
- CAPOWIEZ, Y., RENAULT, P. & BELZUNCES, L. 2001. Three - dimensional trajectories of <sup>60</sup>Co - labelled earthworms in artificial cores of soil. *European journal of soil science*, 52, 365-375.
- CHAN, K.-Y. & MEAD, J. A. 2003. Soil acidity limits colonisation by *Aporrectodea trapezoides*, an exotic earthworm. *Pedobiologia*, 47, 225-229.
- CHAN, K. Y. 2001. An overview of some tillage impacts on earthworm population abundance and diversity—implications for functioning in soils. *Soil and tillage research*, 57, 179-191.
- CHANTIGNY, M. H., ANGERS, D. A., PRÉVOST, D., VÉZINA, L. P. & CHALIFOUR, F. P. 1997. Soil aggregation and fungal and bacterial biomass under annual and perennial cropping systems. *Soil Science Society of America Journal*, 61, 262-267.
- CHAUVAT, M., PEREZ, G., HEDDE, M. & LAMY, I. 2014. Establishment of bioenergy crops on metal contaminated soils stimulates belowground fauna. *biomass and bioenergy*, 62, 207-211.
- CHEN, T. B., ZHENG, Y. M., LEI, M., HUANG, Z. C., WU, H. T., CHEN, H., FAN, K. K., YU, K., WU, X. & TIAN, Q. Z. 2005. Assessment of heavy metal pollution in surface soils of urban parks in Beijing, China. *Chemosphere*, 60, 542-51.



- CHENEVAL, E., ADAM-POUPART, A. & ZAYED, J. 2011. La crise alimentaire, le développement durable et les biocarburants: perspectives d'avenir. *[VertigO] La revue électronique en sciences de l'environnement*, 11.
- CHENU, C. & COSENTINO, D. 2011. Microbial regulation of soil structural dynamics. *The architecture and biology of soils: life in inner space*, 37-70.
- CHESWORTH, W. & MARTINI, I. P. 1992. *Weathering, Soils & Paleosols*, Elsevier.
- CHIMENTO, C., ALMAGRO, M. & AMADUCCI, S. 2016. Carbon sequestration potential in perennial bioenergy crops: the importance of organic matter inputs and its physical protection. *Gcb Bioenergy*, 8, 111-121.
- CHOJNACKA, K., MOUSTAKAS, K. & WITEK-KROWIAK, A. 2020. Bio-based fertilizers: A practical approach towards circular economy. *Bioresource Technology*, 295, 122223.
- CHOUDHARY, M., JAT, H. S., DATTA, A., YADAV, A. K., SAPKOTA, T. B., MONDAL, S., MEENA, R. P., SHARMA, P. C. & JAT, M. L. 2018. Sustainable intensification influences soil quality, biota, and productivity in cereal-based agroecosystems. *Applied Soil Ecology*, 126, 189-198.
- CIUCCI, M. 2020. Energies Renouvelables. *Fiches techniques sur l'Union européenne*. Parlement Européen.
- CLIFTON-BROWN, J. C. & LEWANDOWSKI, I. 2000. Water use efficiency and biomass partitioning of three different *Miscanthus* genotypes with limited and unlimited water supply. *Annals of Botany*, 86, 191-200.
- CLIFTON - BROWN, J. C., LEWANDOWSKI, I., ANDERSSON, B., BASCH, G., CHRISTIAN, D. G., KJELDSSEN, J. B., JØRGENSEN, U., MORTENSEN, J. R. V., RICHE, A. B. & SCHWARZ, K.-U. 2001. Performance of 15 *Miscanthus* genotypes at five sites in Europe. *Agronomy Journal*, 93, 1013-1019.
- CLUZEAU, D., GUERNION, M., CHAUSSOD, R., MARTIN-LAURENT, F., VILLENAVE, C., CORTET, J., RUIZ-CAMACHO, N., PERNIN, C., MATEILLE, T., PHILIPPOT, L., BELLIDO, A., ROUGÉ, L., ARROUAYS, D., BISPO, A. & PÉRÈS, G. 2012. Integration of biodiversity in soil quality monitoring: Baselines for microbial and soil fauna parameters for different land-use types. *European Journal of Soil Biology*, 49, 63-72.
- COLEMAN, J. G., JOHNSON, D. R., STANLEY, J. K., BEDNAR, A. J., WEISS JR, C. A., BOYD, R. E. & STEEVENS, J. A. 2010. Assessing the fate and effects of nano aluminum oxide in the terrestrial earthworm, *Eisenia fetida*. *Environmental toxicology and chemistry*, 29, 1575-1580.
- COMIFER 2009. Teneur en P, K et Mg des organes végétaux récoltés pour les cultures de plein champ et les principaux fourrages.
- COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. 2006. COM (2006) 231 - Communication from the Commission to the council, the European Parliament, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions - Thematic Strategy for Soil Protection Brussels. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:52006DC0231&from=EN>
- CONSTANCIAS, F., TERRAT, S., SABY, N. P. A., HERRIGUE, W., VILLERD, J., GUILLEMIN, J. P., BIJU - DUVAL, L., NOWAK, V., DEQUIEDT, S. & RANJARD, L. 2015. Mapping and determinism of soil microbial community distribution across an agricultural landscape. *MicrobiologyOpen*, 4, 505-517.
- COOPER, J., LOMBARDI, R., BOARDMAN, D. & CARLIELL-MARQUET, C. 2011. The future distribution and production of global phosphate rock reserves. *Resources Conservation and Recycling*, 57, 78-86.
- COPE - SELBY, N., COOKSON, A., SQUANCE, M., DONNISON, I., FLAVELL, R. & FARRAR, K. 2017. Endophytic bacteria in *Miscanthus* seed: implications for germination, vertical inheritance of endophytes, plant evolution and breeding. *Gcb Bioenergy*, 9, 57-77.
- CORNU, S. & CLOZEL, B. 2000. Extractions séquentielles et spéciation des éléments trace métalliques dans les sols naturels. *Etude et Gestion des sols*, 7, 179 - 189.
- CORTET, J., GOMOT-DE VAUFLERY, A., POINSOT-BALAGUER, N., GOMOT, L., TEXIER, C. & CLUZEAU, D. 1999. The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *European Journal of Soil Biology*, 35, 115-134.

- COSTA, O. Y. A., RAAIJMAKERS, J. M. & KURAMAE, E. E. 2018. Microbial extracellular polymeric substances: ecological function and impact on soil aggregation. *Frontiers in microbiology*, 9, 1636.
- CRUZ, N. C., RODRIGUES, S. M., CARVALHO, L., DUARTE, A. C., PEREIRA, E., RÖMKENS, P. F. A. M. & TARELHO, L. A. C. 2017. Ashes from fluidized bed combustion of residual forest biomass: recycling to soil as a viable management option. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 14770-14781.
- CRUZ, N. C., SILVA, F. C., TARELHO, L. A. C. & RODRIGUES, S. M. 2019. Critical review of key variables affecting potential recycling applications of ash produced at large-scale biomass combustion plants. *Resources, Conservation and Recycling*, 150, 104427.
- CRUZ-PAREDES, C., LOPEZ-GARCIA, A., RUBAEK, G. H., HOVMAND, M. F., SORENSEN, P. & KJOLLER, R. 2017a. Risk assessment of replacing conventional P fertilizers with biomass ash: Residual effects on plant yield, nutrition, cadmium accumulation and mycorrhizal status. *Sci Total Environ*, 575, 1168-1176.
- CRUZ-PAREDES, C., WALLANDER, H., KJØLLER, R. & ROUSK, J. 2017b. Using community trait-distributions to assign microbial responses to pH changes and Cd in forest soils treated with wood ash. *Soil Biology and Biochemistry*, 112, 153-164.
- CURRY, J. P. 2004. Factors affecting the abundance of earthworms in soils. *Earthworm ecology*, 9, 113.
- CURRY, J. P. & SCHMIDT, O. 2007. The feeding ecology of earthworms – a review. *Pedobiologia*, 50, 463-477.
- DA COSTA, T. P., QUINTEIRO, P., TARELHO, L. A. C., ARROJA, L. & DIAS, A. C. 2020. Life cycle assessment of woody biomass ash for soil amelioration. *Waste Management*, 101, 126-140.
- DAHMEN, N., LEWANDOWSKI, I., ZIBEK, S. & WEIDTMANN, A. 2019. Integrated lignocellulosic value chains in a growing bioeconomy: Status quo and perspectives. *GCB Bioenergy*, 11, 107-117.
- DALE, V. H., KLINE, K. L., WIENS, J. & FARGIONE, J. 2010. *Biofuels: implications for land use and biodiversity*, Ecological Society of America Washington, DC.
- DARWISH, O. H., PERSAUD, N. & MARTENS, D. C. 1995. Effect of long-term application of animal manure on physical properties of three soils. *Plant and Soil*, 176, 289-295.
- DAS, A., LAL, R., SOMIREDDY, U., BONIN, C., VERMA, S. & RIMAL, B. K. 2016. Changes in soil quality and carbon storage under biofuel crops in central Ohio. *Soil Research*, 54.
- DAUBER, J., CASS, S., GABRIEL, D., HARTE, K., ÅSTRÖM, S., O'ROURKE, E. & STOUT, J. C. 2015. Yield-biodiversity trade-off in patchy fields of *Miscanthus × giganteus*. *GCB Bioenergy*, 7, 455-467.
- DAUBER, J., JONES, M. B. & STOUT, J. C. 2010. The impact of biomass crop cultivation on temperate biodiversity. *Gcb Bioenergy*, 2, 289-309.
- DAUBER, J. & MIYAKE, S. 2016. To integrate or to segregate food crop and energy crop cultivation at the landscape scale? Perspectives on biodiversity conservation in agriculture in Europe. *Energy, Sustainability and Society*, 6, 25.
- DAVEY, C. L., JONES, L. E., SQUANCE, M., PURDY, S. J., MADDISON, A. L., CUNNIFF, J., DONNISON, I. & CLIFTON - BROWN, J. 2017. Radiation capture and conversion efficiencies of *Miscanthus sacchariflorus*, *M. sinensis* and their naturally occurring hybrid *M. × giganteus*. *Gcb Bioenergy*, 9, 385-399.
- DELIAS, O., MAGNIER, J. & BARREAU, S. 2017. Phosphore et Agriculture : Etat du droit en France. France: Office International de l'Eau (OIEau).
- DEMEYER, A., NKANA, J. C. V. & VERLOO, M. G. 2001. Characteristics of wood ash and influence on soil properties and nutrient uptake: an overview. *Bioresource technology*, 77, 287-295.
- DEMUYNCK, S., SUCCIU, I. R., GRUMIAUX, F., DOUAY, F. & LEPRETRE, A. 2014. Effects of field metal-contaminated soils submitted to phytostabilisation and fly ash-aided phytostabilisation on the avoidance behaviour of the earthworm *Eisenia fetida*. *Ecotoxicol Environ Saf*, 107, 170-7.
- DENOROY, P., JORDAN-MEILLE, L. & SAGOT, S. 2019. La Fertilisation P - K - Mg. *Les bases du raisonnement*. Paris: Comifer.

- DENYES, M. J., PARIEN, M. A., RUTTER, A. & ZEEB, B. A. 2014. Physical, chemical and biological characterization of six biochars produced for the remediation of contaminated sites. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, e52183.
- DEQUIEDT, S., SABY, N. P. A., LELIEVRE, M., JOLIVET, C., THIOULOUSE, J., TOUTAIN, B., ARROUAYS, D., BISPO, A., LEMANCEAU, P. & RANJARD, L. 2011. Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management. *Global Ecology and Biogeography*, 20, 641-652.
- DOMINGUEZ, J. 2004. *State-of-the-Art and New Perspectives on Vermicomposting Research*.
- DORAN, J. W. & PARKIN, T. B. 1994. Defining and assessing soil quality. *Defining soil quality for a sustainable environment*, 1-21.
- DORAN, J. W. & PARKIN, T. B. 1997. Quantitative indicators of soil quality: a minimum data set. *Methods for assessing soil quality*, 49, 25-37.
- DUCHICELA, J., SULLIVAN, T. S., BONTTI, E. & BEVER, J. D. 2013. Soil aggregate stability increase is strongly related to fungal community succession along an abandoned agricultural field chronosequence in the Bolivian Altiplano. *Journal of Applied Ecology*, 50, 1266-1273.
- DUNCAN, E. G., O'SULLIVAN, C. A., ROPER, M. M., BIGGS, J. S. & PEOPLES, M. B. 2018. Influence of co-application of nitrogen with phosphorus, potassium and sulphur on the apparent efficiency of nitrogen fertiliser use, grain yield and protein content of wheat. *Field Crops Research*, 226, 56-65.
- DYCKMANS, J., SCRIMGEOUR, C. M. & SCHMIDT, O. 2005. A simple and rapid method for labelling earthworms with <sup>15</sup>N and <sup>13</sup>C. *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 989-993.
- EUROPEAN COMMISSION. 2000. Commission Decision (2000/532/EC) of 3 May 2000 replacing Decision 94/3/EC establishing a list of wastes pursuant to Article 1(a) of Council Directive 75/442/EEC on waste and Council Decision 94/904/EC establishing a list of hazardous waste pursuant to Article 1(4) of Council Directive 91/689/EEC on hazardous waste. Off. J. Eur. Communities L 226/3, 6 September 2000.
- EUROPEAN COMMISSION. 2016. Proposal for a DIRECTIVE OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL on the promotion of the use of energy from renewable sources (recast). COM(2016) 767 final 2016/0382 (COD). Brussels.
- EDWARDS, C. A. & BOHLEN, P. J. 1996. *Biology and ecology of earthworms*, Springer Science & Business Media.
- EDWARDS, C. A. & LOFTY, J. R. 1975. Invertebrate fauna of the Park Grass plots. I. Soil fauna. *Rep Rothamsted Exp Stn*.
- EHLERS, L. J. & LUTHY, R. G. 2003. Peer reviewed: contaminant bioavailability in soil and sediment. ACS Publications.
- ELLIOTT, H. A., LIBERATI, M. R. & HUANG, C. P. 1986. Competitive Adsorption of Heavy Metals by Soils 1. *Journal of Environmental Quality*, 15, 214-219.
- EMMERLING, C. & PUDE, R. 2017. Introducing Miscanthus to the greening measures of the EU Common Agricultural Policy. *Gcb Bioenergy*, 9, 274-279.
- EMMERLING, C., SCHMIDT, A., RUF, T., VON FRANCKEN-WELZ, H. & THIELEN, S. 2017. Impact of newly introduced perennial bioenergy crops on soil quality parameters at three different locations in W - Germany. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 180, 759-767.
- EN, I. N. 2005. 17294-2: Water quality-Application of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)-Part 2: Determination of 62 elements. *International standard*. AFNOR.
- ERIKSEN-HAMEL, N. S. & WHALEN, J. K. 2006. Growth rates of *Aporrectodea caliginosa* (Oligochaetae: Lumbricidae) as influenced by soil temperature and moisture in disturbed and undisturbed soil columns. *Pedobiologia*, 50, 207-215.
- ERNST, G., FELTEN, D., VOHLAND, M. & EMMERLING, C. 2009a. Impact of ecologically different earthworm species on soil water characteristics. *European Journal of Soil Biology*, 45, 207-213.
- ERNST, G., HENSELER, I., FELTEN, D. & EMMERLING, C. 2009b. Decomposition and mineralization of energy crop residues governed by earthworms. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, 1548-1554.

- ESCO 2014. Matières fertilisantes d'origine résiduaire. *Chapitre 2. Caractéristiques physico-chimiques et biologiques des Mafor.*
- FERTILIZERS EUROPE. 2018. Forecast of food, farming and fertilizer use in the European Union 2017 - 2027. *Sustainable Agriculture in Europe.* Brussels, Belgium.
- FARRAG, K., SENESI, N., ROVIRA, P. S. & BRUNETTI, G. 2012. Effects of selected soil properties on phytoremediation applicability for heavy-metal-contaminated soils in the Apulia region, Southern Italy. *Environmental monitoring and assessment*, 184, 6593-6606.
- FELTEN, D. & EMMERLING, C. 2011. Effects of bioenergy crop cultivation on earthworm communities— A comparative study of perennial (*Miscanthus*) and annual crops with consideration of graded land-use intensity. *Applied Soil Ecology*, 49, 167-177.
- FELTEN, D., FRÖBA, N., FRIES, J. & EMMERLING, C. 2013. Energy balances and greenhouse gas-mitigation potentials of bioenergy cropping systems (*Miscanthus*, rapeseed, and maize) based on farming conditions in Western Germany. *Renewable Energy*, 55, 160-174.
- FENG, M.-H., SHAN, X.-Q., ZHANG, S. & WEN, B. 2005. A comparison of the rhizosphere-based method with DTPA, EDTA, CaCl<sub>2</sub>, and NaNO<sub>3</sub> extraction methods for prediction of bioavailability of metals in soil to barley. *Environmental Pollution*, 137, 231-240.
- FENG, Q., CHAUBEY, I., ENGEL, B., CIBIN, R., SUDHEER, K. P. & VOLENEC, J. 2017. Marginal land suitability for switchgrass, *Miscanthus* and hybrid poplar in the Upper Mississippi River Basin (UMRB). *Environmental modelling & software*, 93, 356-365.
- FERCHAUD, F., VITTE, G. & MARY, B. 2016. Changes in soil carbon stocks under perennial and annual bioenergy crops. *Gcb Bioenergy*, 8, 290-306.
- FERNANDO, A. & OLIVEIRA, J. S. Effects on Growth, Productivity and Biomass Quality of *Miscanthus x giganteus* of soils contaminated with heavy metals. 2004 2004. 10-14.
- FERNANDO, A. L., GODOVIKOVA, V. & OLIVEIRA, J. F. S. *Miscanthus x giganteus*: contribution to a sustainable agriculture of a future/present-oriented biomaterial. 2004 2004. Trans Tech Publ, 437-441.
- FIRBANK, L. G. 2008. Assessing the ecological impacts of bioenergy projects. *BioEnergy Research*, 1, 12-19.
- FOSSEY, M., ANGERS, D., BUSTANY, C., CUDENNEC, C., DURAND, P., GASCUEL-ODOUX, C., JAFFREZIC, A., PÉRÈS, G., BESSE, C. & WALTER, C. 2020. A Framework to consider soil ecosystem services in territorial planning. *Frontiers in Environmental Science*, 8, 28.
- FRADJ, N. B., ROZAKIS, S., BORZĘCKA, M. & MATYKA, M. 2020. *Miscanthus* in the European bio-economy: A network analysis. *Industrial Crops and Products*, 148, 112281.
- FRÜND, H.-C., GRAEFE, U. & TISCHER, S. 2011. Earthworms as Bioindicators of Soil Quality. *Biology of Earthworms*.
- FÉLIX-FAURE, B., CARRIÈRE, M. & KALT, S. I. 2013. 11<sup>èmes</sup> rencontres de la fertilisation raisonnée et de l'analyse COMIFER-GEMAS - Poitiers-Futuroscope 20 et 21 novembre 2013. Prendre en compte tous les indicateurs de l'acidité des sols pour l'interprétation et le conseil.
- FÜZESI, I., HEIL, B. & KOVÁCS, G. 2015. Effects of Wood Ash on the Chemical Properties of Soil and Crop Vitality in Small Plot Experiments/ Fahamu hatása a talaj kémiai jellemzőire és a termény vitalitására egy kisparcellás kísérletben. *Acta Silvatica et Lignaria Hungarica*, 11, 55-64.
- GARCIA, M., RÖMBKE, J., DE BRITO, M. T. & SCHEFFCZYK, A. 2008. Effects of three pesticides on the avoidance behavior of earthworms in laboratory tests performed under temperate and tropical conditions. *Environmental Pollution*, 153, 450-456.
- GEISLER, B., MEW, M. C. & STEINER, G. 2019. Phosphate supply security for importing countries: Developments and the current situation. *Science of the Total Environment*, 677, 511-523.
- GERWIN, W., REPMANN, F., GALATSIDAS, S., VLACHAKI, D., GOUNARIS, N., BAUMGARTEN, W., VOLKMANN, C., KERAMITZIS, D., KIOURTSIS, F. & FREESE, D. 2018. Assessment and quantification of marginal lands for biomass production in Europe using soil-quality indicators. *Soil*, 4, 267-290.
- GHOSH, D., GUPTA, A. & MOHAPATRA, S. 2019. A comparative analysis of exopolysaccharide and phytohormone secretions by four drought-tolerant rhizobacterial strains and their impact on

- osmotic-stress mitigation in *Arabidopsis thaliana*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35, 90.
- GIANNITSOPOULOS, M. L., BURGESS, P. J. & RICKSON, R. J. 2020. Effects of conservation tillage drills on soil quality indicators in a wheat – oilseed rape rotation: organic carbon, earthworms and water - stable aggregates. *Soil Use and Management*, 36, 139-152.
- GIL-SOTRES, F., TRASAR-CEPEDA, C., LEIRÓS, M. C. & SEOANE, S. 2005. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 877-887.
- GLOVER, J. D., REGANOLD, J. P. & ANDREWS, P. K. 2000. Systematic method for rating soil quality of conventional, organic, and integrated apple orchards in Washington State. *Agriculture, ecosystems & environment*, 80, 29-45.
- GOBAT, J.-M., ARAGNO, M. & MATTHEY, W. 2004. *The living soil: fundamentals of soil science and soil biology*, Science Publishers.
- GRAND, C., ANDRES, S., BATTAGLIA-BRUNET, F., CLUZEAU, D., DE VAUFLEURY, A., FAURE, O., GUÉRIN, V., GUERNION, M., HARRIS-HELLAL, J. & JOULIAN, C. 2018. Étude de la qualité des milieux terrestres: caractérisation des impacts écotoxiques dans les sols.
- GREEF, J. M. & DEUTER, M. 1993. Syntaxonomy of *Miscanthus × giganteus* GREEF et DEU. *Angewandte Botanik*, 67, 87-90.
- GREEF, J. M., DEUTER, M., JUNG, C. & SCHONDELMAIER, J. 1997. Genetic diversity of European *Miscanthus* species revealed by AFLP fingerprinting. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 44, 185-195.
- GRIFFITHS, B. S., RÖMBKE, J., SCHMELZ, R. M., SCHEFFCZYK, A., FABER, J. H., BLOEM, J., PÉRÈS, G., CLUZEAU, D., CHABBI, A., SUHADOLC, M., SOUSA, J. P., MARTINS DA SILVA, P., CARVALHO, F., MENDES, S., MORAIS, P., FRANCISCO, R., PEREIRA, C., BONKOWSKI, M., GEISEN, S., BARDGETT, R. D., DE VRIES, F. T., BOLGER, T., DIRILGEN, T., SCHMIDT, O., WINDING, A., HENDRIKSEN, N. B., JOHANSEN, A., PHILIPPOT, L., PLASSART, P., BRU, D., THOMSON, B., GRIFFITHS, R. I., BAILEY, M. J., KEITH, A., RUTGERS, M., MULDER, C., HANNULA, S. E., CREAMER, R. & STONE, D. 2016. Selecting cost effective and policy-relevant biological indicators for European monitoring of soil biodiversity and ecosystem function. *Ecological Indicators*, 69, 213-223.
- GRUMIAUX, F., DEMUYNCK, S., PERNIN, C. & LEPRETRE, A. 2015. Earthworm populations of highly metal-contaminated soils restored by fly ash-aided phytostabilisation. *Ecotoxicol Environ Saf*, 113, 183-90.
- GRUMIAUX, F., DEMUYNCK, S., SCHIKORSKI, D., LEMIÈRE, S. & LEPRÊTRE, A. 2010. Assessing the effects of FBC ash treatments of metal-contaminated soils using life history traits and metal bioaccumulation analysis of the earthworm *Eisenia andrei*. *Chemosphere*, 79, 156-161.
- GRUMIAUX, F., DEMUYNCK, S., SCHIKORSKI, D., LEMIÈRE, S., VANDENBULCKE, F. & LEPRÊTRE, A. 2007. Effect of fluidized bed combustion ashes used in metal polluted soil remediation on life history traits of the oligochaeta *Eisenia andrei*. *European Journal of Soil Biology*, 43, S256-S260.
- GUPTA, V. V. S. R. & GERMIDA, J. J. 2015. Soil aggregation: Influence on microbial biomass and implications for biological processes. *Soil Biology and Biochemistry*, 80, A3-A9.
- GUZMAN, J. G., USSIRI, D. A. N. & LAL, R. 2019. Soil physical properties following conversion of a reclaimed minesoil to bioenergy crop production. *Catena*, 176, 289-295.
- GÓMEZ-REY, M. X., MADEIRA, M. & COUTINHO, J. 2012. Wood ash effects on nutrient dynamics and soil properties under Mediterranean climate. *Annals of forest science*, 69, 569-579.
- GONZALEZ, G., ESPINOZA, E., LIU, Z. & ZOU, X. 2006. A fluorescent marking and re-count technique using the invasive earthworm, *Pontoscolex corethrurus* (Annelida: Oligochaeta). *Caribbean Journal of Science*, Vol. 42, No. 3, 371-379.
- HADAS, A., PARKIN, T. B. & STAHL, P. D. 1998. Reduced CO<sub>2</sub> release from decomposing wheat straw under N - limiting conditions: simulation of carbon turnover. *European Journal of Soil Science*, 49, 487-494.

- HAGLUND, N. 2008. Guideline for classification of ash from solid biofuels and peat utilized for recycling and fertilizing in forestry and agriculture. *NT Technical report 613*. Nordic Innovation Centre Oslo.
- HALLAM, J. & HODSON, M. E. 2020. Impact of different earthworm ecotypes on water stable aggregates and soil water holding capacity. *Biology and Fertility of Soils*, 1-11.
- HAMOU, M. B., KULHÁNEK, A., LACOMBE, S. & WHALEN, J. K. 2007. Marking earthworms for release–recapture studies using the trace element rubidium. *applied soil ecology*, 36, 41-45.
- HAN, T., CAI, A., LIU, K., HUANG, J., WANG, B., LI, D., QASWAR, M., FENG, G. & ZHANG, H. 2019. The links between potassium availability and soil exchangeable calcium, magnesium, and aluminum are mediated by lime in acidic soil. *Journal of Soils and Sediments*, 19, 1382-1392.
- HARGREAVES, P. R., BAKER, K. L., GRACESON, A., BONNETT, S., BALL, B. C. & CLOY, J. M. 2019. Soil compaction effects on grassland silage yields and soil structure under different levels of compaction over three years. *European Journal of Agronomy*, 125916.
- HEATON, E. A., DOHLEMAN, F. G., MIGUEZ, A. F., JUVIK, J. A., LOZOVAYA, V., WIDHOLM, J., ZABOTINA, O. A., MCISAAC, G. F., DAVID, M. B. & VOIGT, T. B. 2010. Miscanthus: a promising biomass crop. *Advances in botanical research*. Elsevier.
- HEATON, E. A., LONG, S. P., VOIGT, T. B., JONES, M. B. & CLIFTON-BROWN, J. 2004. Miscanthus for renewable energy generation: European Union experience and projections for Illinois. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, 9, 433-451.
- HEDDE, M., VAN OORT, F., BOUDON, E., ABONNEL, F. & LAMY, I. 2013a. Responses of soil macroinvertebrate communities to Miscanthus cropping in different trace metal contaminated soils. *Biomass and Bioenergy*, 55, 122-129.
- HEDDE, M., VAN OORT, F. & LAMY, I. 2012. Functional traits of soil invertebrates as indicators for exposure to soil disturbance. *Environ Pollut*, 164, 59-65.
- HEDDE, M., VAN OORT, F., RENOUF, E., THÉNARD, J. & LAMY, I. 2013b. Dynamics of soil fauna after plantation of perennial energy crops on polluted soils. *Applied Soil Ecology*, 66, 29-39.
- HERNÁNDEZ, T., MORENO, J. I. & COSTA, F. 1991. Influence of sewage sludge application on crop yields and heavy metal availability. *Soil Science and Plant Nutrition*, 37, 201-210.
- HMSO 2014. Waste Exemption: U10 Spreading Waste to Benefit Agricultural Land. . London, UK: Her Majesty's Stationery Office.
- HODKINSON, T. R., CHASE, M. W., LLEDÓ, D. M., SALAMIN, N. & RENVOIZE, S. A. 2002. Phylogenetics of Miscanthus, Saccharum and related genera (Saccharinae, Andropogoneae, Poaceae) based on DNA sequences from ITS nuclear ribosomal DNA and plastid trnL intron and trnL-F intergenic spacers. *Journal of plant research*, 115, 381-392.
- HOEFFNER, K., MONARD, C., SANTONJA, M. & CLUZEAU, D. 2018. Feeding behaviour of epi-aneic earthworm species and their impacts on soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 125, 1-9.
- HOEFFNER, K., SANTONJA, M., CLUZEAU, D. & MONARD, C. 2019. Epi-aneic rather than strict-aneic earthworms enhance soil enzymatic activities. *Soil Biology and Biochemistry*, 132, 93-100.
- HOOPER, D. U., CHAPIN, F. S., EWEL, J. J., HECTOR, A., INCHAUSTI, P., LAVOREL, S., LAWTON, J. H., LODGE, D. M., LOREAU, M. & NAEEM, S. 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological monographs*, 75, 3-35.
- HORRIGUE, W., DEQUIEDT, S., PRÉVOST-BOURÉ, N. C., JOLIVET, C., SABY, N. P. A., ARROUAYS, D., BISPO, A., MARON, P.-A. & RANJARD, L. 2016. Predictive model of soil molecular microbial biomass. *Ecological Indicators*, 64, 203-211.
- HOUOT, S. & CHAUSSOD, R. 1995. Impact of agricultural practices on the size and activity of the microbial biomass in a long-term field experiment. *Biology and fertility of soils*, 19, 309-316.
- HUND-RINKE, K. & WIECHERING, H. 2001. Earthworm avoidance test for soil assessments. *Journal of Soils and Sediments*, 1, 15-20.
- HUOTARI, N., TILLMAN-SUTELA, E., MOILANEN, M. & LAIHO, R. 2015. Recycling of ash–For the good of the environment? *Forest Ecology and Management*, 348, 226-240.

- INGERSLEV, M., HANSEN, M., PEDERSEN, L. B. & SKOV, S. 2014. Effects of wood chip ash fertilization on soil chemistry in a Norway spruce plantation on a nutrient-poor soil. *Forest Ecology and Management*, 334, 10-17.
- INSAM, H. & KNAPP, B. A. 2011. *Recycling of biomass ashes*, Springer Science & Business Media.
- IQBAL, M., BERMOND, A. & LAMY, I. 2013. Impact of miscanthus cultivation on trace metal availability in contaminated agricultural soils: Complementary insights from kinetic extraction and physical fractionation. *Chemosphere*, 91, 287-294.
- IQBAL, Y. & LEWANDOWSKI, I. 2016. Biomass composition and ash melting behaviour of selected miscanthus genotypes in Southern Germany. *Fuel*, 180, 606-612.
- IQBAL, Y. & LEWANDOWSKI, I. 2017. Lignocellulosic Energy Crops, Production, and Provision. In: MEYERS, R. A. (ed.) *Encyclopedia of Sustainability Science and Technology*. New York, NY: Springer New York.
- ISO 11268-1. 2012. Qualité du sol — Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre — Partie 1: Détermination de la toxicité aiguë vis-à-vis de *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*.
- ISO 11268-2. 2015. Soil quality - Effects of pollutants on earthworms - Part 2: Determination of effects on reproduction of *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*.
- ISO 11272. 2017. Soil quality — Determination of dry bulk density.
- ISO 17225-6, I. 2014. Solid biofuels - Fuel specifications and classes - Part 6: Graded non-woody pellets.
- ISO 17512-1. 2008. Soil quality-avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour. Part 1: test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). Geneva. Switzerland
- ISO 20130. 2018. Qualité du sol - Mesure de l'activité enzymatique dans des échantillons de sol en utilisant des colorimétriques.
- ISO 23611-1. 2006. Soil quality - Sampling of soil invertebrates. Part 1. Hand-sorting and formalin extraction of earthworms. Geneva. Switzerland.
- ISO 23753-1. 2019. Qualité du sol — Détermination de l'activité des déshydrogénases dans les sols — Partie 1: Méthode au chlorure de triphényltétrazolium (CTT).
- IUSS WORKING GROUP, W. 2015. World reference base for soil resources 2014, update 2015: International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. Fao Rome.
- JAMES, A. K., HELLE, S. S., THRING, R. W., SAROHIA, G. S. & RUTHERFORD, P. M. 2014. Characterization of inorganic elements in woody biomass bottom ash from a fixed-bed combustion system, a downdraft gasifier and a wood pellet burner by fractionation. *Energy Environ. Res*, 4, 85-94.
- JAT, H. S., DATTA, A., CHOUDHARY, M., YADAV, A. K., CHOUDHARY, V., SHARMA, P. C., GATHALA, M. K., JAT, M. L. & MCDONALD, A. 2019. Effects of tillage, crop establishment and diversification on soil organic carbon, aggregation, aggregate associated carbon and productivity in cereal systems of semi-arid Northwest India. *Soil and Tillage Research*, 190, 128-138.
- JAWOREK, A., CZECH, T., SOBCZYK, A. T. & KRUPA, A. 2013. Properties of biomass vs. coal fly ashes deposited in electrostatic precipitator. *Journal of Electrostatics*, 71, 165-175.
- JONES, C. G., LAWTON, J. H. & SHACHAK, M. 1994. Organisms as ecosystem engineers. *Ecosystem management*. Springer.
- JONES, R. J. A., VERHEIJEN, F. G. A., REUTER, H. I. & JONES, A. R. 2008. Environmental assessment of soil for monitoring volume V: Procedures & protocols. EUR23490 EN/5. Office for the Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 165pp.[doi: 10.2788/94366] [http://eu-soils.jrc.ec.europa.eu/ESDB\\_Archive/eu-soils\\_docs/doc.html](http://eu-soils.jrc.ec.europa.eu/ESDB_Archive/eu-soils_docs/doc.html) (July, 2013).
- JOUANY, C., CHENU, C. & CHASSIN, P. 1992. Détermination de la mouillabilité des constituants du sol à partir de mesures d'angles de contact: revue bibliographique. *Science du sol*, 30, 33-47.
- KABATA-PENDIAS, A. 2011. Trace elements in soils and plants.,(4th edn)(CRC Press: Boca Raton, FL, USA).
- KAHLE, P., BOELCKE, B. & ZACHARIAS, S. 1999. Effects of *Miscanthus x giganteus* cultivation on chemical and physical soil properties. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 162, 27-32.

- KAKNICS, J., MICHEL, R. & POIRIER, J. 2016. Miscanthus ash transformation and interaction with bed materials at high temperature. *Fuel Processing Technology*, 141, 178-184.
- KARACA, A., CETIN, S. C., TURGAY, O. C. & KIZILKAYA, R. 2010. Soil enzymes as indication of soil quality. *Soil enzymology*. Springer.
- KARLEN, D. L., ANDREWS, S. S., WIENHOLD, B. J. & ZOBECK, T. M. 2008. Soil quality assessment: past, present and future.
- KARLEN, D. L., DITZLER, C. A. & ANDREWS, S. S. 2003. Soil quality: why and how? *Geoderma*, 114, 145-156.
- KARLEN, D. L. & STOTT, D. E. 1994. A framework for evaluating physical and chemical indicators of soil quality. *Defining soil quality for a sustainable environment*, 35, 53-72.
- KARLEN, D. L., VEUM, K. S., SUDDUTH, K. A., OBRYCKI, J. F. & NUNES, M. R. 2019. Soil health assessment: Past accomplishments, current activities, and future opportunities. *Soil and Tillage Research*, 195, 104365.
- KESSTRA, S. D., BOUMA, J., WALLINGA, J., TITTONELL, P., SMITH, P., CERDÀ, A., MONTANARELLA, L., QUINTON, J. N., PACHEPSKY, Y. & VAN DER PUTTEN, W. H. 2016. The significance of soils and soil science towards realization of the United Nations Sustainable Development Goals. *Soil*.
- KHALIL, M. A., ABDEL-LATEIF, H. M., BAYOUMI, B. M., VAN STRAALLEN, N. M. & VAN GESTEL, C. A. M. 1996. Effects of metals and metal mixtures on survival and cocoon production of the earthworm *Aporrectodea caliginosa*. *Pedobiologia*, 40, 548-556.
- KIBBLEWHITE, M. G., JONES, R. J. A., BARITZ, R., HUBER, S., ARROUAYS, D., MICHELI, E. & STEPHENS, M. 2008a. ENVASSO final report part I: scientific and technical activities. *ENVASSO Project (Contract 022713) coordinated by Cranfield University, UK, for Scientific Support to Policy, European Commission 6th Framework Research Programme*.
- KIBBLEWHITE, M. G., RITZ, K. & SWIFT, M. J. 2008b. Soil health in agricultural systems. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 363, 685-701.
- KIDD, P., BARCELÓ, J., BERNAL, M. P., NAVARI-IZZO, F., POSCHENRIEDER, C., SHILEV, S., CLEMENTE, R. & MONTERROSO, C. 2009. Trace element behaviour at the root-soil interface: implications in phytoremediation. *Environmental and Experimental Botany*, 67, 243-259.
- KIESEL, A. & LEWANDOWSKI, I. 2017. Miscanthus as biogas substrate—Cutting tolerance and potential for anaerobic digestion. *Gcb Bioenergy*, 9, 153-167.
- KLOBUČAR, G. I. V., ŠTAMBUK, A., ŠRUT, M., HUSNJAK, I., MERKAŠ, M., TRAVEN, L. & CVETKOVIĆ, Ž. 2011. *Aporrectodea caliginosa*, a suitable earthworm species for field based genotoxicity assessment? *Environmental pollution*, 159, 841-849.
- KOBETIČOVÁ, K., HOFMAN, J. & HOLOUBEK, I. 2010. Ecotoxicity of wastes in avoidance tests with *Enchytraeus albidus*, *Enchytraeus crypticus* and *Eisenia fetida* (Oligochaeta). *Waste Management*, 30, 558-564.
- KORZENIOWSKA, J. & STANISLAWSKA-GLUBIAK, E. 2015. Phytoremediation potential of *Miscanthus × giganteus* and *Spartina pectinata* in soil contaminated with heavy metals. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 11648-11657.
- KRAEMER, F. B., HALLETT, P. D., MORRÁS, H., GARIBALDI, L., COSENTINO, D., DUVAL, M. & GALANTINI, J. 2019. Soil stabilisation by water repellency under no-till management for soils with contrasting mineralogy and carbon quality. *Geoderma*, 355, 113902.
- KREJSL, J. A. & SCANLON, T. M. 1996. Evaluation of beneficial use of wood - fired boiler ash on oat and bean growth. *Journal of environmental quality*, 25, 950-954.
- KUKLINSKY - SOBRAL, J., ARAÚJO, W. L., MENDES, R., GERALDI, I. O., PIZZIRANI - KLEINER, A. A. & AZEVEDO, J. L. 2004. Isolation and characterization of soybean - associated bacteria and their potential for plant growth promotion. *Environmental microbiology*, 6, 1244-1251.
- KUMPIENE, J., LAGERKVIST, A. & MAURICE, C. 2007. Stabilization of Pb-and Cu-contaminated soil using coal fly ash and peat. *Environmental pollution*, 145, 365-373.



- KUNTZ, M., BERNER, A., GATTINGER, A., SCHOLBERG, J. M., MÄDER, P. & PFIFFNER, L. 2013. Influence of reduced tillage on earthworm and microbial communities under organic arable farming. *Pedobiologia*, 56, 251-260.
- KÄRCHER, M. A., IQBAL, Y., LEWANDOWSKI, I. & SENN, T. 2015. Comparing the performance of *Miscanthus x giganteus* and wheat straw biomass in sulfuric acid based pretreatment. *Bioresource Technology*, 180, 360-364.
- LACKMANN, C., VELKI, M., SEILER, T.-B. & HOLLERT, H. 2018. Herbicides diuron and fluzifop-p-butyl affect avoidance response and multixenobiotic resistance activity in earthworm *Eisenia andrei*. *Chemosphere*, 210, 110-119.
- LANGHAMMER, M. & GRIMM, V. 2020. Mitigating bioenergy-driven biodiversity decline: A modelling approach with the European brown hare. *Ecological Modelling*, 416, 108914.
- LANZERSTORFER, C. 2017. Chemical composition and properties of ashes from combustion plants using *Miscanthus* as fuel. *J Environ Sci (China)*, 54, 178-183.
- LAPIED, E., NAHMANI, J. & ROUSSEAU, G. X. 2009. Influence of texture and amendments on soil properties and earthworm communities. *Applied Soil Ecology*, 43, 241-249.
- LAUBER, C. L., STRICKLAND, M. S., BRADFORD, M. A. & FIERER, N. 2008. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 2407-2415.
- LAVELLE, P. 1983. The structure of earthworm communities. *Earthworm ecology*. Springer.
- LAVELLE, P., BIGNELL, D., LEPAGE, M., WOLTERS, V., ROGER, P.-A., INESON, P., HEAL, O. W. & DHILLION, S. 1997. Soil function in a changing world: the role of invertebrate ecosystem engineers. *European Journal of soil biology*, 33, 159-193.
- LAVELLE, P., SPAIN, A., BLOUIN, M., BROWN, G., DECAËNS, T., GRIMALDI, M., JIMÉNEZ, J. J., MCKEY, D., MATHIEU, J. & VELASQUEZ, E. 2016. Ecosystem engineers in a self-organized soil: a review of concepts and future research questions. *Soil Science*, 181, 91-109.
- LAVELLE, P. & SPAIN, A. V. 2001. *Soil ecology*, Springer Science & Business Media.
- LE BISSONNAIS, Y. & ARROUAYS, D. 1997. Aggregate stability and assessment of soil crustability and erodibility: II. Application to humic loamy soils with various organic carbon contents. *European Journal of Soil Science*, 48, 39-48.
- LE BISSONNAIS, Y. & LE SOUDER, C. 1995. Mesurer la stabilité structurale des sols pour évaluer leur sensibilité à la battance et à l'érosion. *Etude et Gestion des sols*, 2, 43-56.
- LE BISSONNAIS, Y. L. 1996. Aggregate stability and assessment of soil crustability and erodibility: I. Theory and methodology. *European Journal of soil science*, 47, 425-437.
- LE COUTEULX, A., WOLF, C., HALLAIRE, V. & PÉRÈS, G. 2015. Burrowing and casting activities of three endogeic earthworm species affected by organic matter location. *Pedobiologia*, 58, 97-103.
- LE GUILLOU, C., ANGERS, D. A., LETERME, P. & MENASSERI-AUBRY, S. 2011. Differential and successive effects of residue quality and soil mineral N on water-stable aggregation during crop residue decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, 43, 1955-1960.
- LE GUILLOU, C., ANGERS, D. A., MARON, P. A., LETERME, P. & MENASSERI-AUBRY, S. 2012. Linking microbial community to soil water-stable aggregation during crop residue decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, 50, 126-133.
- LECLERCQ-DRANSART, J., SANTORUFO, L., PERNIN, C., LOUVEL, B., DEMUYNCK, S., GRUMIAUX, F., DOUAY, F. & LEPRETRE, A. 2018. Litter breakdown as a tool for assessment of the efficiency of afforestation and ash-aided phytostabilization on metal-contaminated soils functioning in Northern France. *Environ Sci Pollut Res Int*, 25, 18579-18595.
- LEE, K. E. 1985. *Earthworms: their ecology and relationships with soils and land use*, Academic Press Inc.
- LEE, S.-H., JI, W., LEE, W.-S., KOO, N., KOH, I. H., KIM, M.-S. & PARK, J.-S. 2014. Influence of amendments and aided phytostabilization on metal availability and mobility in Pb/Zn mine tailings. *Journal of environmental management*, 139, 15-21.
- LEHMANN, A. & RILLIG, M. C. 2015. Understanding mechanisms of soil biota involvement in soil aggregation: A way forward with saprobic fungi ? *Soil Biology and Biochemistry*, 88, 298-302.

- LERNER, B. R. & UTZINGER, J. D. 1986. Wood ash as soil liming material. *HortScience*, 21, 76-78.
- LEWANDOWSKI, I., CLIFTON-BROWN, J., KIESEL, A., HASTINGS, A. & IQBAL, Y. 2018a. 2 - Miscanthus. In: ALEXOPOULOU, E. (ed.) *Perennial Grasses for Bioenergy and Bioproducts*. Academic Press.
- LEWANDOWSKI, I., CLIFTON-BROWN, J., TRINDADE, L. M., VAN DER LINDEN, G. C., SCHWARZ, K.-U., MÜLLER-SÄMANN, K., ANISIMOV, A., CHEN, C. L., DOLSTRA, O. & DONNISON, I. S. 2016. Progress on optimizing miscanthus biomass production for the European bioeconomy: Results of the EU FP7 project OPTIMISC. *Frontiers in plant science*, 7, 1620.
- LEWANDOWSKI, I., CLIFTON-BROWN, J. C., SCURLOCK, J. M. O. & HUISMAN, W. 2000. Miscanthus: European experience with a novel energy crop. *Biomass and Bioenergy*, 19, 209-227.
- LEWANDOWSKI, I. & HEINZ, A. 2003. Delayed harvest of miscanthus—implications on biomass quantity and quality and environmental impacts of energy production. *European Journal of Agronomy*, 19, 45-63.
- LEWANDOWSKI, I., JOHN, C.-B., ANDREAS, K., ASTLEY, H. & IQBAL, Y. 2018b. Miscanthus. In: ALEXOPOULOU, E. (ed.) *Perennial Grasses for Bioenergy and Bioproducts*.
- LEWANDOWSKI, I., SCURLOCK, J. M. O., LINDVALL, E. & CHRISTOU, M. 2003. The development and current status of perennial rhizomatous grasses as energy crops in the US and Europe. *Biomass and bioenergy*, 25, 335-361.
- LI, C., MOORE-KUCERA, J., LEE, J., CORBIN, A., BRODHAGEN, M., MILES, C. & INGLIS, D. 2014. Effects of biodegradable mulch on soil quality. *Applied Soil Ecology*, 79, 59-69.
- LI, D. & ALVAREZ, P. J. J. 2011. Avoidance, weight loss, and cocoon production assessment for *Eisenia fetida* exposed to C60 in soil. *Environmental toxicology and chemistry*, 30, 2542-2545.
- LI, X., RUBAEK, G. H. & SORENSEN, P. 2016. High plant availability of phosphorus and low availability of cadmium in four biomass combustion ashes. *Sci Total Environ*, 557-558, 851-60.
- LINDSAY, W. L. 1979. *Chemical equilibria in soils*, New York, John Wiley & Sons.
- LITTLEJOHN, C. P., HOFMANN, R. W. & WRATTEN, S. D. 2019. Delivery of multiple ecosystem services in pasture by shelter created from the hybrid sterile bioenergy grass *Miscanthus x giganteus*. *Scientific Reports*, 9, 10.
- LOPAREVA-POHU, A., POURRUT, B., WATERLOT, C., GARÇON, G., BIDAR, G., PRUVOT, C., SHIRALI, P. & DOUAY, F. 2011a. Assessment of fly ash-aided phytostabilisation of highly contaminated soils after an 8-year field trial: part 1. Influence on soil parameters and metal extractability. *Sci Total Environ*, 409, 647-54.
- LOPAREVA-POHU, A., VERDIN, A., GARÇON, G., SAHRAOUI, A. L.-H., POURRUT, B., DEBIANE, D., WATERLOT, C., LARUELLE, F., BIDAR, G. & DOUAY, F. 2011b. Influence of fly ash aided phytostabilisation of Pb, Cd and Zn highly contaminated soils on *Lolium perenne* and *Trifolium repens* metal transfer and physiological stress. *Environmental Pollution*, 159, 1721-1729.
- LORD, R., ATKINSON, J., LANE, A., SCURLOCK, J. & STREET, G. 2008. Biomass, Remediation, re-Generation (BioReGen Life Project): Reusing brownfield sites for renewable energy crops. *GeoCongress 2008: Geotechnics of Waste Management and Remediation*.
- LOWE, C. N. & BUTT, K. R. 2005. Culture techniques for soil dwelling earthworms: A review. *Pedobiologia*, 49, 401-413.
- LOWE, C. N. & BUTT, K. R. 2007. Earthworm culture, maintenance and species selection in chronic ecotoxicological studies: a critical review. *European Journal of Soil Biology*, 43, S281-S288.
- LOWE, C. N., BUTT, K. R. & CHEYNIER, K. Y.-M. 2016. Assessment of avoidance behaviour by earthworms (*Lumbricus rubellus* and *Octolasion cyaneum*) in linear pollution gradients. *Ecotoxicology and environmental safety*, 124, 324-328.
- LOYCE, C., LAURENT, A., BERTHOUS, M., BORUJERDI, E., BUTIER, A., ROMELLOT, D. & MALVOISIN, P. Assessing Yields of *Miscanthus x Giganteus* and *Miscanthus sinensis* Grown Under Several Planting Methods: Results from a Multi-Environment Trial in the North of France. 2018 2018. ASA-CSSA-SSSA.
- LUKKARI, T. & HAIMI, J. 2005. Avoidance of Cu-and Zn-contaminated soil by three ecologically different earthworm species. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62, 35-41.

- LUNDSTRÖM, U. S., BAIN, D. C., TAYLOR, A. F. S., VAN HEES, P. A. W., GEIBE, C. E., HOLMSTRÖM, S. J. M., MELKERUD, P. A., FINLAY, R., JONES, D. L. & NYBERG, L. 2003. Effects of acidification and its mitigation with lime and wood ash on forest soil processes in southern Sweden. A joint multidisciplinary study. *Water, Air and Soil Pollution: Focus*, 3, 167-188.
- MAFF. 1986. *The Analysis of agricultural materials : a manual of the analytical methods used by the Agricultural Development and Advisory Service / Ministry of Agriculture, Fisheries and Food.*, London Her Majesty's Stationery Office.
- MANDRE, M., PÄRN, H. & OTS, K. 2006. Short-term effects of wood ash on the soil and the lignin concentration and growth of *Pinus sylvestris* L. *Forest Ecology and Management*, 223, 349-357.
- MASCHOWSKI, C., KRUSPAN, P., GARRA, P., ARIF, A. T., TROUVÉ, G. & GIERÉ, R. 2019. Physicochemical and mineralogical characterization of biomass ash from different power plants in the Upper Rhine Region. *Fuel*, 258, 116020.
- MATHIEU, A., BAIZE, D., RAOUL, C. & DANIAU, C. 2008. Proposition de référentiels régionaux en éléments traces métalliques dans les sols: leur utilisation dans les évaluations des risques. *Environnement, Risque & Santé*, 7.
- MATHIEU, J., CARO, G. & DUPONT, L. 2018. Methods for studying earthworm dispersal. *Applied Soil Ecology*, 123, 339-344.
- MATSON, P. A., PARTON, W. J., POWER, A. G. & SWIFT, M. J. 1997. Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science*, 277, 504-509.
- MAZAUD, D. 1979. Évaluation de méthodes de marquage permettant le repérage des lombriciens au terrain: Premières applications.
- MCCALMONT, J. P., HASTINGS, A., MCNAMARA, N. P., RICHTER, G. M., ROBSON, P., DONNISON, I. S. & CLIFTON-BROWN, J. 2017. Environmental costs and benefits of growing *Miscanthus* for bioenergy in the UK. *Glob Change Biol Bioenergy*, 9, 489-507.
- MCTAVISH, M. J., GORGOLEWSKI, A., MURPHY, S. D. & BASILIKO, N. 2020a. Anecic earthworms (*Lumbricus terrestris*) facilitate the burial of surface-applied wood ash. *Biology and Fertility of Soils*, 56, 195-203.
- MCTAVISH, M. J., GORGOLEWSKI, A., MURPHY, S. D. & BASILIKO, N. 2020b. Field and laboratory responses of earthworms to use of wood ash as a forest soil amendment. *Forest Ecology and Management*, 474, 118376.
- MEIWES, K. J. 1995. Application of lime and wood ash to decrease acidification of forest soils. *Water, Air, and Soil Pollution*, 85, 143-152.
- METEO FRANCE. 2019. *Climat: Été 2019 au 3ème rang des étés les plus chaud* [Online]. Available: <http://www.meteofrance.fr/actualites/75248603-climat-ete-2019-au-3e-rang-des-etes-les-plus-chauds> [Accessed 28/09/2020].
- MICHEL, R., KAKNICS, J., BOUCHETOU, M. L., GRATUZE, B., BALLAND, M., HUBERT, J. & POIRIER, J. 2012. Physicochemical changes in *Miscanthus* ash on agglomeration with fluidized bed material. *Chemical engineering journal*, 207, 497-503.
- MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT. 2005. *Ecosystems and human well-being*, Island press United States of America.
- MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION. 2020. Dossier PAC - Campagne 2020 - Déclaration des surfaces d'intérêt écologique (SIE). Synthèse des conditions d'éligibilité et de déclaration.
- MINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE, D. D. D., DES TRANSPORTS ET DU LOGEMENT 2012. Cendres de chaufferie à biomasse : quelques rappels de la réglementation sur le statut des cendres et sur celui des installations. Direction générale de la prévention des risques - Service de la prévention des nuisances et de la qualité de l'environnement - Département Politique de gestion des déchets.
- MISCANTHUS, F. 2014. Le miscanthus, une solution de chauffage économique et écologique.
- MIYAKE, S., RENOUF, M., PETERSON, A., MCALPINE, C. & SMITH, C. 2012. Land-use and environmental pressures resulting from current and future bioenergy crop expansion: A review. *Journal of Rural Studies*, 28, 650-658.

- MOICEANU, G., VOICU, G., FERDEȘ, M., PARASCHIV, G., DINCĂ, M. N., VLĂDUȚ, V., GAGEANU, I. & CHIȚOIU, M. 2016. Comparative study on biogas production using cow and swine manure mixed with *Miscanthus x giganteus* as substrate. *Romanian Biotechnological Letters*, 21, 11969.
- MORAGUES-SAITUA, L., ARIAS-GONZÁLEZ, A. & GARTZIA-BENGOETXEA, N. 2017. Effects of biochar and wood ash on soil hydraulic properties: A field experiment involving contrasting temperate soils. *Geoderma*, 305, 144-152.
- MORANDI, F., PERRIN, A. & ØSTERGÅRD, H. 2016. Miscanthus as energy crop: Environmental assessment of a miscanthus biomass production case study in France. *Journal of Cleaner Production*, 137, 313-321.
- MORTENSEN, L. H., CRUZ-PAREDES, C., QIN, J., RØNN, R. & VESTERGÅRD, M. 2020. Effect of ash application on the decomposer food web and N mineralization in a Norway spruce plantation. *Science of The Total Environment*, 136793.
- MORTENSEN, L. H., RONN, R. & VESTERGARD, M. 2018. Bioaccumulation of cadmium in soil organisms - With focus on wood ash application. *Ecotoxicol Environ Saf*, 156, 452-462.
- MOSNEANG, C. L., OPRESCU, I., DUMITRESCU, E., MUSELIN, F., BORLEA, G. F., DAVID, G. & CRISTINA, R. T. 2016. Soil eco-risk assessment using a simple earthworm (*Eisenia fetida*) qualitative avoidance test: A Romanian case study of five swine farm surroundings. *Journal of Soil and Water Conservation*, 71, 414-419.
- MOUGIN, C. 2018. Biochem-Env: a platform of biochemistry for research in environmental and agricultural sciences. V2 ed.: Portail Data INRAE.
- MUIR, M. A., YUNUSA, I. A. M., BURCHETT, M. D., LAWRIE, R., CHAN, K. Y. & MANOHARAN, V. 2007. Short-term responses of two contrasting species of earthworms in an agricultural soil amended with coal fly-ash. *Soil Biology and Biochemistry*, 39, 987-992.
- NF EN 12176. 1998. Caractérisation des boues Détermination de la valeur du pH. AFNOR.
- NF EN 12879. 2000. Caractérisation des boues - Détermination de la perte au feu de la matière sèche. AFNOR.
- NF EN ISO 11885. 2009. Qualité de l'eau - Dosage d'éléments choisis par spectroscopie d'émission optique avec plasma induit par haute fréquence (ICP-OES).
- NF U 42-001-1. 2011. Engrais - Dénominations et spécifications - Partie 1 : engrais minéraux. AFNOR.
- NF U 44-051. 2006. Amendements Organiques-Dénominations. *Spécifications et Marquage*, 14. AFNOR.
- NF ISO 10390. 2005. Qualité du sol - Détermination du pH.
- NF ISO 10694. 1995. Soil quality - Determination of organic carbon and total carbon content total after dry combustion.
- NF ISO 11263. 1994. Soil quality-Determination of phosphorus. Spectrometric determination of phosphorus in sodium hydrogen carbonate solution. AFNOR.
- NF ISO 13878. 1998. *Soil quality-Determination of total nitrogen content by dry combustion ("elemental analysis")*.
- NF ISO 22036. 2009. Qualité du sol - Dosage des éléments traces dans des extraits de sol par spectrométrie d'émission atomique avec plasma induit par haute fréquence (ICP-AES). AFNOR.
- NF U 44-001. 2017. Amendements minéraux basiques - Exigences et spécifications techniques.
- NF U 44-095. 2002. Amendements organiques - Composts contenant des matières d'intérêt agronomiques, issues du traitement des eaux. AFNOR.
- NF X 31-130. 1999. Qualité des sols–Méthodes chimiques–Détermination de la capacité d'échange cationique (CEC) et des cations extractibles. AFNOR.
- NF X 31-147. 1996. Qualité des sols–Sols, sédiments-Mise en solution totale par attaque acide. AFNOR.
- NORDIN, A. 1994. Chemical elemental characteristics of biomass fuels. *Biomass and Bioenergy*, 6, 339-347.

- NOYCE, G. L., FULTHORPE, R., GORGOLEWSKI, A., HAZLETT, P., TRAN, H. & BASILIKO, N. 2016. Soil microbial responses to wood ash addition and forest fire in managed Ontario forests. *Applied Soil Ecology*, 107, 368-380.
- NSANGANWIMANA, F., POURRUT, B., MENCH, M. & DOUAY, F. 2014. Suitability of *Miscanthus* species for managing inorganic and organic contaminated land and restoring ecosystem services. A review. *J Environ Manage*, 143, 123-34.
- NSANGANWIMANA, F., POURRUT, B., WATERLOT, C., LOUVEL, B., BIDAR, G., LABIDI, S., FONTAINE, J., MUCHEMBLED, J., LOUNÈS-HADJ SAHRAOUI, A., FOURRIER, H. & DOUAY, F. 2015. Metal accumulation and shoot yield of *Miscanthus × giganteus* growing in contaminated agricultural soils: Insights into agronomic practices. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 213, 61-71.
- NUNES, M. R., KARLEN, D. L. & MOORMAN, T. B. 2020a. Tillage Intensity Effects on Soil Structure Indicators—A US Meta-Analysis. *Sustainability*, 12, 2071.
- NUNES, M. R., KARLEN, D. L., VEUM, K. S., MOORMAN, T. B. & CAMBARDELLA, C. A. 2020b. Biological soil health indicators respond to tillage intensity: A US meta-analysis. *Geoderma*, 369, 114335.
- O'SULLIVAN, L., BAMPA, F., KNIGHTS, K. & CREAMER, R. E. 2017. Soil protection for a sustainable future: options for a soil monitoring network for Ireland. *Soil Use and Management*, 33, 346-363.
- OBERNBERGER, I., BRUNNER, T. & BÄRNTHALER, G. 2006. Chemical properties of solid biofuels—significance and impact. *Biomass and Bioenergy*, 30, 973-982.
- OBRIOT, F., STAUFFER, M., GOUBARD, Y., CHEVIRON, N., PERES, G., EDEN, M., REVALLIÉ, GONOD, L. & HOUOT, S. 2016. Multi-criteria indices to evaluate the effects of repeated organic amendment applications on soil and crop quality. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 232, 165-178.
- OCHECOVA, P., TLUSTOS, P. & SZAKOVA, J. 2014. Wheat and soil response to wood fly ash application in contaminated soils. *Agronomy Journal*, 106, 995-1002.
- ODLARE, M. & PELL, M. 2009. Effect of wood fly ash and compost on nitrification and denitrification in agricultural soil. *Applied Energy*, 86, 74-80.
- OHNO, T. 1992. Neutralization of soil acidity and release of phosphorus and potassium by wood ash. *Journal of Environmental Quality*, 21, 433-438.
- OTS, K., TILK, M. & AGURAIJUJA, K. 2017. The effect of oil shale ash and mixtures of wood ash and oil shale ash on the above- and belowground biomass formation of Silver birch and Scots pine seedlings on a cutaway peatland. *Ecological Engineering*, 108, 296-306.
- OUATTARA, M. S., LAURENT, A., BARBU, C., BERTHOU, M., BORUJERDI, E., BUTIER, A., MALVOISIN, P., ROMÉLOT, D. & LOYCE, C. 2020. Effects of several establishment modes of *Miscanthus × giganteus* and *Miscanthus sinensis* on yields and yield trends. *GCB Bioenergy*.
- OUSTRIÈRE, N. G. 2016. Assemblages végétaux pour phytomanager des sols contaminés en métaux (Cu et Zn/Pb/Cd), rhizofiltrer de l'eau contaminée en Cu et fournir des biomasses à la bioéconomie.
- OWOJORI, O. J., REINECKE, A. J., VOUA-OTOMO, P. & REINECKE, S. A. 2009. Comparative study of the effects of salinity on life-cycle parameters of four soil-dwelling species (*Folsomia candida*, *Enchytraeus doerjesi*, *Eisenia fetida* and *Aporrectodea caliginosa*). *Pedobiologia*, 52, 351-360.
- PANAGOS, P., VAN LIEDEKERKE, M., YIGINI, Y. & MONTANARELLA, L. 2013. Contaminated Sites in Europe: Review of the Current Situation Based on Data Collected through a European Network. *Journal of Environmental and Public Health*, 2013, 158764.
- PATTERSON, S. J., ACHARYA, S. N., THOMAS, J. E., BERTSCHI, A. B. & ROTHWELL, R. L. 2004. Barley biomass and grain yield and canola seed yield response to land application of wood ash. *Agronomy journal*, 96, 971-977.
- PAUGET, B., FAURE, O., CONORD, C., CRINI, N. & DE VAUFLEURY, A. 2015. In situ assessment of phyto and zooavailability of trace elements: a complementary approach to chemical extraction procedures. *Science of the Total Environment*, 521, 400-410.
- PAUL, E. A. 2014. *Soil microbiology, ecology and biochemistry*, Academic press.

- PERES, G., BISPO, A., GRAND, C. & GALSOMES, L. 2012. Le programme de recherche ADEME «bioindicateurs de l'état biologique des sols»: ses objectifs, sa mise en oeuvre, son déroulement. *Actes des journées techniques nationales de l'ADEME*.
- PERES, G., CLUZEAU, D., FERRAND, C. & PERON, D. 2006. Earthworms used as indicators of agricultural managements. *BIO-BIO Project. Biodiversity-Bioindication to evaluate soil health. RM Cenci and F. Sena (Eds), EUR, 22245, 107-115*.
- PERUCCI, P., MONACI, E., ONOFRI, A., VISCHETTI, C. & CASUCCI, C. 2008. Changes in physico-chemical and biochemical parameters of soil following addition of wood ash: a field experiment. *European journal of agronomy, 28, 155-161*.
- PETITJEAN, C., PHILIBERT, A., MANNEVILLE, V., AMIAUD, B., PERRIN, A.-S., CHARRIER, X., GASTAL, F., DE VliegHER, A., WILLEKENS, K. & MONTENACH, D. 2019. Biomasse microbienne carbonée et activités enzymatiques: gammes de valeurs obtenues pour différents sols agricoles français et belges.
- PICHTEL, J. R. & HAYES, J. M. 1990. Influence of fly ash on soil microbial activity and populations. *Journal of environmental quality, 19, 593-597*.
- PIDLISNYUK, V., SHAPOVAL, P., ZGORELEC, Z., STEFANOVSKA, T. & ZHUKOV, O. V. 2020. Multiyear phytoremediation and dynamic of foliar metal (loid) s concentration during application of *Miscanthus × giganteus* Greef et Deu to polluted soil from Bakar, Croatia. *Environmental Science and Pollution Research*.
- PLASSARD, C. & HINSINGER, P. 2020. Production végétale et nutrition phosphatée: quels sont les leviers mobilisables pour optimiser la biodisponibilité du Phosphore en agriculture? Académie d'Agriculture.
- POGRZEBA, M., KRZYŻAK, J., SAS-NOWOSIELSKA, A., MAJKOWSKI, W., MAŁKOWSKI, E. & KITA, A. 2011. A heavy metal environmental threat resulting from combustion of biofuels of plant origin. *Environmental Heavy Metal Pollution and Effects on Child Mental Development*. Springer.
- POST, W. M. & KWON, K. C. 2000. Soil carbon sequestration and land - use change: processes and potential. *Global change biology, 6, 317-327*.
- POSTMA-BLAAUW, M. B., DE GOEDE, R. G. M., BLOEM, J., FABER, J. H. & BRUSSAARD, L. 2010. Soil biota community structure and abundance under agricultural intensification and extensification. *Ecology, 91, 460-473*.
- POTTS, S. G., BIESMEIJER, J. C., KREMEN, C., NEUMANN, P., SCHWEIGER, O. & KUNIN, W. E. 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in ecology & evolution, 25, 345-353*.
- PRENDERGAST-MILLER, M. T., KATSIAMIDES, A., ABBASS, M., STURZENBAUM, S. R., THORPE, K. L. & HODSON, M. E. 2019. Polyester-derived microfibre impacts on the soil-dwelling earthworm *Lumbricus terrestris*. *Environmental Pollution, 251, 453-459*.
- PROTANO, G., BARONI, F., DI LELLA, L. A., MAZZONI, A., NANNONI, F. & PAPALE, A. 2020. How do properties and heavy metal levels change in soils fertilized with regulated doses of urban sewage sludge in the framework of a real agronomic treatment program? *Journal of Soils and Sediments, 20, 12*.
- PUKALCHIK, M., MERCL, F., TEREKHOVA, V. & TLUSTOŠ, P. 2018. Biochar, wood ash and humic substances mitigating trace elements stress in contaminated sandy loam soil: Evidence from an integrative approach. *Chemosphere, 203, 228-238*.
- PULLEMAN, M., CREAMER, R., HAMER, U., HELDER, J., PELOSI, C., PERES, G. & RUTGERS, M. 2012. Soil biodiversity, biological indicators and soil ecosystem services—an overview of European approaches. *Current Opinion in Environmental Sustainability, 4, 529-538*.
- PÉLOSI, C., TOUTOUS, L., CHIRON, F., DUBS, F., HEDDE, M., MURATET, A., PONGE, J. F., SALMON, S. & MAKOWSKI, D. 2013. Reduction of pesticide use can increase earthworm populations in wheat crops in a European temperate region. *Agriculture, ecosystems & environment, 181, 223-230*.
- PÉRÈS, G. 2003. Identification et quantification in situ des interactions entre la diversité lombricienne et la macro-bioporosité dans le contexte polyculture breton. Influence sur le fonctionnement hydrique du sol.

- PÉRÈS, G., VANDENBULCKE, F., GUERNION, M., HEDDE, M., BEGUIRISTAIN, T., DOUAY, F., HOUOT, S., PIRON, D., RICHARD, A. & BISPO, A. 2011. Earthworm indicators as tools for soil monitoring, characterization and risk assessment. An example from the national Bioindicator programme (France). *Pedobiologia*, 54, S77-S87.
- QASIM, B. H. 2015. Détermination, spéciation et biodisponibilité des éléments traces métalliques dans les sols contaminés et technosols.
- QIN, J., HOVMAND, M. F., EKELUND, F., RONN, R., CHRISTENSEN, S., GROOT, G. A., MORTENSEN, L. H., SKOV, S. & KROGH, P. H. 2017. Wood ash application increases pH but does not harm the soil mesofauna. *Environ Pollut*, 224, 581-589.
- REED, E. Y., CHADWICK, D. R., HILL, P. W. & JONES, D. L. 2017. Critical comparison of the impact of biochar and wood ash on soil organic matter cycling and grassland productivity. *Soil Biology and Biochemistry*, 110, 134-142.
- RICHTER, G. M., RICHE, A. B., DAILEY, A. G., GEZAN, S. A. & POWLSON, D. S. 2008. Is UK biofuel supply from *Miscanthus* water - limited ? *Soil Use and Management*, 24, 235-245.
- RIEHL, A., ELSASS, F., DUPLAY, J., HUBER, F. & TRAUTMANN, M. 2010. Changes in soil properties in a fluvisol (calcaric) amended with coal fly ash. *Geoderma*, 155, 67-74.
- RITCHIE, J. C. 2000. Soil erosion. *Remote sensing in hydrology and water management*. Springer.
- RODRIGUEZ, H. & FRAGA, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnol. Adv*, 319-339.
- ROGERS, J. G. & BRAMMER, J. G. 2012. Estimation of the production cost of fast pyrolysis bio-oil. *Biomass and Bioenergy*, 36, 208-217.
- RUF, T. & EMMERLING, C. 2017. Impact of premature harvest of *Miscanthus x giganteus* for biogas production on organic residues, microbial parameters and earthworm community in soil. *Applied Soil Ecology*, 114, 74-81.
- RUF, T., MAKSELON, J., UDELHOVEN, T. & EMMERLING, C. 2018a. Soil quality indicator response to land-use change from annual to perennial bioenergy cropping systems in Germany. *Global Change Biology Bioenergy*, 10, 444-459.
- RUF, T., MAKSELON, J., UDELHOVEN, T. & EMMERLING, C. 2018b. Soil quality indicator response to land-use change from annual to perennial bioenergy cropping systems in Germany. *GCB Bioenergy*, 10, 444-459.
- SAARSALMI, A., DEROME, J. & LEVULA, T. 2005. Effect of wood ash fertilization on stand growth, soil, water and needle chemistry, and berry yields of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) in a Scots pine stand in Finland. *Utilisation of industrial wastes in forestry/Ed. Mandre, M.*
- SABY, N. P. A., LEMERCIER, B., ARROUAYS, D., LEMÉNAGER, S., LOUIS, B. P., MILLET, F. & BARDY, M. 2014. Le programme Base de Données des Analyses de Terre (BDAT). *Etude et Gestion des Sols*, 21, 141-150.
- SAGE, R., CUNNINGHAM, M., HAUGHTON, A. J., MALLOTT, M. D., BOHAN, D. A., RICHE, A. & KARP, A. 2010. The environmental impacts of biomass crops: use by birds of miscanthus in summer and winter in southwestern England. *Ibis*, 152, 487-499.
- SALBU, B. & KREKLING, T. 1998. Characterisation of radioactive particles in the environment. *Analyst*, 123, 843-850.
- SÁNCHEZ, J., CURT, M. D., ROBERT, N. & FERNÁNDEZ, J. 2019. Biomass resources. *The Role of Bioenergy in the Bioeconomy*. Elsevier.
- SANDERS, J. R., ADAMS, T. M. & CHRISTENSEN, B. T. 1986. Extractability and bioavailability of zinc, nickel, cadmium and copper in three Danish soils sampled 5 years after application of sewage sludge. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 37, 1155-1164.
- SANTÁS-MIGUEL, V., FERNÁNDEZ-SANJURJO, M. J., NÚÑEZ-DELGADO, A., ÁLVAREZ-RODRÍGUEZ, E., DÍAZ-RAVIÑA, M., ARIAS-ESTÉVEZ, M. & FERNÁNDEZ-CALVIÑO, D. 2020. Use of biomass ash to reduce toxicity affecting soil bacterial community growth due to tetracycline antibiotics. *Journal of Environmental Management*, 269, 110838.
- SARKER, J. R., SINGH, B. P., COWIE, A. L., FANG, Y., COLLINS, D., BADGERY, W. & DALAL, R. C. 2018. Agricultural management practices impacted carbon and nutrient concentrations in soil

- aggregates, with minimal influence on aggregate stability and total carbon and nutrient stocks in contrasting soils. *Soil and Tillage Research*, 178, 209-223.
- SASTRE, J., VIDAL, M., RAURET, G. & SAURAS, T. 2001. A soil sampling strategy for mapping trace element concentrations in a test area. *Science of the total environment*, 264, 141-152.
- SCANLAN, C. A., BRENNAN, R. F., D'ANTUONO, M. F. & SARRE, G. A. 2017. The interaction between soil pH and phosphorus for wheat yield and the impact of lime-induced changes to soil aluminium and potassium. *Soil Research*, 55, 341-353.
- SCHIEMENZ, K. & EICHLER-LÖBERMANN, B. 2010. Biomass ashes and their phosphorus fertilizing effect on different crops. *Nutrient cycling in agroecosystems*, 87, 471-482.
- SCHIEMENZ, K., KERN, J., PAULSEN, H.-M., BACHMANN, S. & EICHLER-LÖBERMANN, B. 2011. Phosphorus fertilizing effects of biomass ashes. *Recycling of biomass ashes*. Springer.
- SCHMIDT, O., CURRY, J. P., HACKETT, R. A., PURVIS, G. & CLEMENTS, R. O. 2001. Earthworm communities in conventional wheat monocropping and low - input wheat - clover intercropping systems. *Annals of Applied Biology*, 138, 377-388.
- SCHÖNEGGER, D., GÓMEZ-BRANDÓN, M., MAZZIER, T., INSAM, H., HERMANN, R., LEIJENHORST, E., BARDELLI, T. & JUÁREZ, M. F.-D. 2018. Phosphorus fertilising potential of fly ash and effects on soil microbiota and crop. *Resources, Conservation and Recycling*, 134, 262-270.
- SCURLOCK, J. M. O. 1999. Miscanthus: a review of European experience with a novel energy crop. Oak Ridge National Lab., TN (US).
- SEMERE, T. & SLATER, F. M. 2007. Ground flora, small mammal and bird species diversity in miscanthus (*Miscanthus × giganteus*) and reed canary-grass (*Phalaris arundinacea*) fields. *Biomass and Bioenergy*, 31, 20-29.
- SERNA - CHAVEZ, H. M., FIERER, N. & VAN BODEGOM, P. M. 2013. Global drivers and patterns of microbial abundance in soil. *Global Ecology and Biogeography*, 22, 1162-1172.
- SHORTALL, O. K. 2013. "Marginal land" for energy crops: Exploring definitions and embedded assumptions. *Energy Policy*, 62, 19-27.
- SILVA, F. C., CRUZ, N. C., TARELHO, L. A. C. & RODRIGUES, S. M. 2019. Use of biomass ash-based materials as soil fertilisers: Critical review of the existing regulatory framework. *Journal of cleaner production*, 214, 112-124.
- SIMONCINI, R., RING, I., SANDSTRÖM, C., ALBERT, C., KASYMOV, U. & ARLETTAZ, R. 2019. Constraints and opportunities for mainstreaming biodiversity and ecosystem services in the EU's Common Agricultural Policy: Insights from the IPBES assessment for Europe and Central Asia. *Land Use Policy*, 88, 104099.
- SIMS, J. T., EDWARDS, A. C., SCHOUMANS, O. F. & SIMARD, R. R. 2000. Integrating soil phosphorus testing into environmentally based agricultural management practices. *Journal of Environmental Quality*, 29, 60-71.
- SIMS, R. W. & GERARD, B. W. 1999. Synopses of the British Fauna (No. 31 Revised)—Earthworms. FSC Publications, Shrewsbury.
- SINGH, P., MITRA, S., MAJUMDAR, D., BHATTACHARYYA, P., PRAKASH, A., BORAH, P., PAUL, A. & RANGAN, L. 2017. Nutrient and enzyme mobilization in earthworm casts: A comparative study with addition of selective amendments in undisturbed and agricultural soils of a mountain ecosystem. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 119, 437-447.
- SINGH, R., SRIVASTAVA, P., SINGH, P., SHARMA, A. K., SINGH, H. & RAGHUBANSHI, A. S. 2018. Impact of rice-husk ash on the soil biophysical and agronomic parameters of wheat crop under a dry tropical ecosystem. *Ecological Indicators*.
- SOL, G. 2011. L'état des sols de France. *Groupeement d'intérêt scientifique sur les sols*, 188.
- SONG, J., SHEN, Q., WANG, L., QIU, G., SHI, J., XU, J., BROOKES, P. C. & LIU, X. 2018. Effects of Cd, Cu, Zn and their combined action on microbial biomass and bacterial community structure. *Environmental pollution*, 243, 510-518.
- SOUSA, J. P., BOLGER, T., DA GAMA, M. M., LUKKARI, T., PONGE, J.-F., SIMÓN, C., TRASER, G., VANBERGEN, A. J., BRENNAN, A. & DUBS, F. 2006. Changes in Collembola richness and diversity along a gradient of land-use intensity: a pan European study. *Pedobiologia*, 50, 147-156.



- SPARKS, D. L. 2003. 3 - Chemistry of Soil Organic Matter. In: SPARKS, D. L. (ed.) *Environmental Soil Chemistry (Second Edition)*. Burlington: Academic Press.
- SPURGEON, D. J., SVENDSEN, C., RIMMER, V. R., HOPKIN, S. P. & WEEKS, J. M. 2000. Relative sensitivity of life - cycle and biomarker responses in four earthworm species exposed to zinc. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 19, 1800-1808.
- SPURGEON, D. J., WEEKS, J. M. & VAN GESTEL, C. A. M. 2003. A summary of eleven years progress in earthworm ecotoxicology: The 7th international symposium on earthworm ecology. Cardiff-Wales 2002. *Pedobiologia*, 47, 588-606.
- STAUFFER, M. 2014. Impact des taillis à très courte rotation de saules sur les propriétés fonctionnelles des sols et définition d'indicateurs de qualité.
- STAUFFER, M., LEYVAL, C., BRUN, J. J., LEPORTIER, P. & BERTHELIN, J. 2014. Effect of willow short rotation coppice on soil properties after three years of growth as compared to forest, grassland and arable land uses. *Plant and soil*, 377, 423-438.
- STOLTE, J., TESFAI, M., ØYGARDEN, L., KVÆRNØ, S., KEIZER, J., VERHEIJEN, F., PANAGOS, P., BALLABIO, C. & HESSEL, R. 2015. *Soil threats in Europe*, Publications Office Luxembourg.
- STOTT, D. E., ANDREWS, S. S., LIEBIG, M. A., WIENHOLD, B. J. & KARLEN, D. L. 2010. Evaluation of  $\beta$ -glucosidase activity as a soil quality indicator for the soil management assessment framework. *Soil Science Society of America Journal*, 74, 107-119.
- STRULLU, L. 2011. Flux d'azote dans une culture pérenne à vocation énergétique, *Miscanthus x giganteus*: étude expérimentale et éléments de modélisation. *Flux d'azote dans une culture pérenne à vocation énergétique, Miscanthus x giganteus: étude expérimentale et éléments de modélisation*, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (2011).
- STRULLU, L., CADOUX, S., PREUDHOMME, M., JEUFFROY, M. H. & BEAUDOIN, N. 2011. Biomass production and nitrogen accumulation and remobilisation by *Miscanthus x giganteus* as influenced by nitrogen stocks in belowground organs. *Field Crops Research*, 121, 381-391.
- STYLES, D., THORNE, F. & JONES, M. B. 2008. Energy crops in Ireland: An economic comparison of willow and *Miscanthus* production with conventional farming systems. *Biomass and Bioenergy*, 32, 407-421.
- SVENDSEN, T. S., HANSEN, P. E., SOMMER, C., MARTINUSSEN, T., GRØNVOLD, J. & HOLTER, P. 2005. Life history characteristics of *Lumbricus terrestris* and effects of the veterinary antiparasitic compounds ivermectin and fenbendazole. *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 927-936.
- TARELHO, L. A. C., TEIXEIRA, E. R., SILVA, D. F. R., MODOLO, R. C. E. & SILVA, J. J. F. Characteristics, management and applications of ashes from thermochemical conversion of biomass to energy. 2012 2012.
- TECHER, D., MARTINEZ-CHOIS, C., LAVAL-GILLY, P., HENRY, S., BENNASROUNE, A., D'INNOCENZO, M. & FALLA, J. 2012. Assessment of *Miscanthus x giganteus* for rhizoremediation of long term PAH contaminated soils. *Applied soil ecology*, 62, 42-49.
- THOMAS, G. W., HASZLER, G. R. & BLEVINS, R. L. 1996. The effects of organic matter and tillage on maximum compactability of soils using the proctor test<sup>1</sup>. *Soil science*, 161, 502-508.
- THOMAS, H. L., SEIRA, J., ESCUDIÉ, R. & CARRÈRE, H. 2018. Lime pretreatment of miscanthus: impact on BMP and batch dry co-digestion with cattle manure. *Molecules*, 23, 1608.
- THOUMAZEAU, A., BESSOU, C., RENEVIER, M.-S., TRAP, J., MARICHAL, R., MARESCHAL, L., DECAËNS, T., BOTTINELLI, N., JAILLARD, B. & CHEVALLIER, T. 2019. Biofunctool®: a new framework to assess the impact of land management on soil quality. Part A: concept and validation of the set of indicators. *Ecological indicators*, 97, 100-110.
- TISDALL, J. M. & OADES, J. M. 1982. Organic matter and water - stable aggregates in soils. *Journal of soil science*, 33, 141-163.
- TRIVEDI, P., SINGH, B. P. & SINGH, B. K. 2018. Chapter 1 - Soil Carbon: Introduction, Importance, Status, Threat, and Mitigation. In: SINGH, B. K. (ed.) *Soil Carbon Storage*. Academic Press.
- TRUOG, E. 1947. Soil Reaction Influence on Availability of Plant Nutrients 1. *Soil Science Society of America Journal*, 11, 305-308.

- TÉCHER, D. 2011. Réhabilitation de sols pollués par des HAP grâce aux bactéries associées à la rhizosphère de *Miscanthus x giganteus*.
- TÓTH, G., STOLBOVOY, V. & MONTANARELLA, L. 2007. Soil quality and sustainability evaluation. *An integrated approach to support soil-related policies of the European Union, JRC position paper, JRC, Italy*.
- UPADHYAY, S. K., SINGH, J. S. & SINGH, D. P. 2011. Exopolysaccharide-producing plant growth-promoting rhizobacteria under salinity condition. *Pedosphere*, 21, 214-222.
- USDA. 2014. Bulk density, Moisture, Aeration.
- USEPA 2007. Method 3051A. Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils, and Oils. Available online: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3051a.pdf> (accessed on 21 August 2019).
- UWE, S. C. U. 2013. Science for Environment Policy In-depth Report: Soil Contamination: Impacts on Human Health. *Science Communication Unit, University of the West of England (produced for the European Commission), Bristol*.
- UWIZEYIMANA, H., WANG, M., CHEN, W. & KHAN, K. 2017. The eco-toxic effects of pesticide and heavy metal mixtures towards earthworms in soil. *Environ Toxicol Pharmacol*, 55, 20-29.
- VAN DER PERK, M. 2013. *Soil and water contamination*, CRC Press.
- VAN DER WEIJDE, T., KIESEL, A., IQBAL, Y., MUYLLE, H., DOLSTRA, O., VISSER, R. G. F., LEWANDOWSKI, I. & TRINDADE, L. M. 2017. Evaluation of *Miscanthus sinensis* biomass quality as feedstock for conversion into different bioenergy products. *Gcb Bioenergy*, 9, 176-190.
- VAN GESTEL, C. A. M. 2012. Soil ecotoxicology: state of the art and future directions. *ZooKeys*, 275.
- VAN OORT, F., JONGMANS, A. G., LAMY, I., BAIZE, D. & CHEVALLIER, P. 2008. Impacts of long-term waste-water irrigation on the development of sandy Luvisols: consequences for metal pollutant distributions. *European Journal of Soil Science*, 59, 925-938.
- VANCE, C. P., UHDE - STONE, C. & ALLAN, D. L. 2003. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New phytologist*, 157, 423-447.
- VANCE, E. D., BROOKES, P. C. & JENKINSON, D. S. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil biology and Biochemistry*, 19, 703-707.
- VASSILEV, S. V., BAXTER, D., ANDERSEN, L. K. & VASSILEVA, C. G. 2013. An overview of the composition and application of biomass ash. Part 1. Phase–mineral and chemical composition and classification. *Fuel*, 105, 40-76.
- VASSILEV, S. V., VASSILEVA, C. G. & BAXTER, D. 2014. Trace element concentrations and associations in some biomass ashes. *Fuel*, 129, 292-313.
- VASSILEV, S. V., VASSILEVA, C. G., SONG, Y.-C., LI, W.-Y. & FENG, J. 2017. Ash contents and ash-forming elements of biomass and their significance for solid biofuel combustion. *Fuel*, 208, 377-409.
- VELMOUROUGANE, K., VENUGOPALAN, M. V., BHATTACHARYYA, T., SARKAR, D., PAL, D. K., SAHU, A., CHANDRAN, P., RAY, S. K., MANDAL, C. & NAIR, K. M. 2014. Microbial biomass carbon status in agro-ecological sub regions of black soils in India. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 84, 519-529.
- VENENDAAL, R., JØRGENSEN, U. & FOSTER, C. A. 1997. European energy crops: a synthesis. *Biomass and Bioenergy*, 13, 147-185.
- VENTER, J. M. & REINECKE, A. J. 1988. The life-cycle of the compost worm *Eisenia fetida* (Oligochaeta). *South African Journal of Zoology*, 23, 161-165.
- VESTERGÅRD, M., BANG - ANDREASEN, T., BUSS, S. M., CRUZ - PAREDES, C., BENTZON - TILIA, S., EKELUND, F., KJØLLER, R., HINDBORG MORTENSEN, L. & RØNN, R. 2018. The relative importance of the bacterial pathway and soil inorganic nitrogen increase across an extreme wood - ash application gradient. *Gcb Bioenergy*, 10, 320-334.
- VIAUD, V., SANTILLÀN-CARVANTES, P., AKKAL-CORFINI, N., LE GUILLOU, C., PRÉVOST-BOURÉ, N. C., RANJARD, L. & MENASSERI-AUBRY, S. 2018. Landscape-scale analysis of cropping system effects on soil quality in a context of crop-livestock farming. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 265, 166-177.

- VILLANNEAU, E., PERRY-GIRAUD, C., SABY, N., JOLIVET, C., MAROT, F., MATON, D., FLOCH-BARNEAUD, A., ANTONI, V. & ARROUAYS, D. 2008. Détection de valeurs anormales d'éléments traces métalliques dans les sols à l'aide du Réseau de Mesure de la Qualité des Sols. *Etude et Gestion des sols*, 15, 183-200.
- VIOLANTE, A., COZZOLINO, V., PERELOMOV, L., CAPORALE, A. G. & PIGNA, M. 2010. Mobility and bioavailability of heavy metals and metalloids in soil environments. *Journal of soil science and plant nutrition*, 10, 268-292.
- VOGEL, H.-J., BARTKE, S., DAEDLOW, K., HELMING, K., KÖGEL-KNABNER, I., LANG, B., RABOT, E., RUSSELL, D., STÖBEL, B., WELLER, U., WIESMEIER, M. & WOLLSCHLÄGER, U. 2018. A systemic approach for modeling soil functions. *Soil*, 4, 83-92.
- WANAT, N., AUSTRUY, A., JOUSSEIN, E., SOUBRAND, M., HITMI, A., GAUTHIER-MOUSSARD, C., LENAIN, J.-F., VERNAY, P., MUNCH, J. C. & PICHON, M. 2013. Potentials of *Miscanthus × giganteus* grown on highly contaminated Technosols. *Journal of Geochemical Exploration*, 126, 78-84.
- WANG, Y., TANG, H., MATTHEW, C., QIU, J. & LI, Y. 2019. Sodium arsenite modified burrowing behavior of earthworm species *Metaphire californica* and *Eisenia fetida* in a farm soil. *Geoderma*, 335, 88-93.
- WARDLE, D. A. 1992. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. *Biological reviews*, 67, 321-358.
- WARNOCK, D. D., MUMMEY, D. L., MCBRIDE, B., MAJOR, J., LEHMANN, J. & RILLIG, M. C. 2010. Influences of non-herbaceous biochar on arbuscular mycorrhizal fungal abundances in roots and soils: results from growth-chamber and field experiments. *Applied Soil Ecology*, 46, 450-456.
- WEBSTER, R. 2007. Analysis of variance, inference, multiple comparisons and sampling effects in soil research. *European Journal of Soil Science*, 58, 74-82.
- WEIGAND, S., AUERSWALD, K. & BECK, T. 1995. Microbial biomass in agricultural topsoils after 6 years of bare fallow. *Biology and fertility of soils*, 19, 129-134.
- WITZEL, C.-P. & FINGER, R. 2016. Economic evaluation of *Miscanthus* production—A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 53, 681-696.
- WU, J., JOERGENSEN, R. G., POMMERENING, B., CHAUSSOD, R. & BROOKES, P. C. 1990. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction—an automated procedure. *Soil Biology & Biochemistry*, 22, 1167-1169.
- X, N. 1992. 31-108 - Détermination of cations Ca, Mg, K, Na extractibles par l'acétate d'ammonium, Qualité des sols, 3ème ed. *AFNOR*, 59-65.
- XU, Y., SESHADRI, B., BOLAN, N., SARKAR, B., OK, Y. S., ZHANG, W., RUMPEL, C., SPARKS, D., FARRELL, M. & HALL, T. 2019. Microbial functional diversity and carbon use feedback in soils as affected by heavy metals. *Environment international*, 125, 478-488.
- XUE, S., KALININA, O. & LEWANDOWSKI, I. 2015. Present and future options for *Miscanthus* propagation and establishment. *Renewable and sustainable energy reviews*, 49, 1233-1246.
- XUE, S., LEWANDOWSKI, I., WANG, X. & YI, Z. 2016. Assessment of the production potentials of *Miscanthus* on marginal land in China. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 54, 932-943.
- YANG, Q., LI, Z., LU, X., DUAN, Q., HUANG, L. & BI, J. 2018. A review of soil heavy metal pollution from industrial and agricultural regions in China: Pollution and risk assessment. *Sci Total Environ*, 642, 690-700.
- YEARDLEY, R. B., GAST, L. C. & LAZORCHAK, J. M. 1996. The potential of an earthworm avoidance test for evaluation of hazardous waste sites. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 15, 1532-1537.
- YEBOAH, N. N. N., SHEARER, C. R., BURNS, S. E. & KURTIS, K. E. 2014. Characterization of biomass and high carbon content coal ash for productive reuse applications. *Fuel*, 116, 438-447.
- YUNUSA, I. A. M., BRAUN, M. & LAWRIE, R. 2009. Amendment of soil with coal fly ash modified the burrowing habits of two earthworm species. *Applied Soil Ecology*, 42, 63-68.

- ZAJĄC, G., SZYSZLAK-BARGŁOWICZ, J., GOŁĘBIOWSKI, W. & SZCZEPANIK, M. 2018. Chemical characteristics of biomass ashes. *Energies*, 11, 2885.
- ZATTA, A., CLIFTON - BROWN, J., ROBSON, P., HASTINGS, A. & MONTI, A. 2014. Land use change from C3 grassland to C4 Miscanthus: effects on soil carbon content and estimated mitigation benefit after six years. *Gcb Bioenergy*, 6, 360-370.
- ZHANG, Q., SHAO, M., JIA, X. & WEI, X. 2019. Changes in soil physical and chemical properties after short drought stress in semi-humid forests. *Geoderma*, 338, 170-177.
- ZIMMERMANN, J., DAUBER, J. & JONES, M. B. 2012. Soil carbon sequestration during the establishment phase of *Miscanthus x giganteus*: a regional - scale study on commercial farms using 13 C natural abundance. *Gcb Bioenergy*, 4, 453-461.
- ZINNGREBE, Y., PE'ER, G., SCHUELER, S., SCHMITT, J., SCHMIDT, J. & LAKNER, S. 2017. The EU's ecological focus areas – How experts explain farmers' choices in Germany. *Land Use Policy*, 65, 93-108.
- ZORNOZA, R., ACOSTA, J. A., BASTIDA, F., DOMÍNGUEZ, S. G., TOLEDO, D. M. & FAZ, A. 2015. Identification of sensitive indicators to assess the interrelationship between soil quality, management practices and human health. *Soil*, 1, 173-185.





**Titre :** Enjeux de la filière thermique du *Miscanthus* : évaluation de l'effet d'une culture de *Miscanthus x giganteus* et de la valorisation agronomique de ses cendres, sur la qualité du sol

**Mots clés :** *Miscanthus x giganteus*, filière thermique, qualité du sol, évaluation multicritère, *Aporrectodea caliginosa*

**Résumé :** Dans un contexte de développement des cultures énergétiques dont fait partie le *Miscanthus x giganteus*, et par conséquent, de production de cendre ayant le statut de déchet, les objectifs de cette thèse, qui s'inscrit dans le projet « Biomasse For the Future » (BFF, Projet ANR 11-BTBR-0006), étaient d'évaluer (1) la qualité du sol d'une culture de *Miscanthus* dans différents contextes de contamination et de marginalité et (2) l'effet de doses croissantes de cendre sur la qualité du sol. Des études au terrain et au laboratoire ont été réalisées, et une approche multicritère a été développée, par l'analyse de paramètres chimiques, physiques et biologiques. Sur sites marginaux, l'effet de la culture de *Miscanthus* sur la qualité du sol apparaît être site dépendant, liée aux propriétés

du sol (texture), à la contamination (ETM) ainsi qu'à l'historique du site. Sur site agricole, si la qualité du sol sous culture de *Miscanthus* apparaît moins bonne que celle sous une culture de blé, elle reste cependant conforme aux références. Au laboratoire, l'application de cendre n'induit pas d'effet délétère sur la survie, la biomasse et la reproduction d'*Aporrectodea caliginosa*, mais un comportement d'évitement est enregistré sous le traitement 50 t/ha. Sur une parcelle de blé, la cendre permet d'augmenter les teneurs en  $P_2O_5$  Olsen et  $K_2O$  échangeable du sol sans effets négatifs sur les autres indicateurs étudiés. Ces travaux mettent en évidence l'effet hétérogène de la culture du *Miscanthus* sur la qualité du sol ainsi que l'intérêt de la valorisation de ses cendres.

**Title:** *Miscanthus* thermal chain challenges: Assessment of the impact of *M. x giganteus* cultivation and agricultural application of ash on soil quality

**Keywords:** *Miscanthus x giganteus*, thermal chain, soil quality, multi-criteria assessment, *Aporrectodea caliginosa*

**Abstract:** In the context of the development of energy crops, of which *Miscanthus* is a part, and consequently the production of ash with waste status, the objectives of this study, which take place within the Biomass For the Future project (BFF, Project ANR 11-BTBR-0006), were (1) to assess the soil quality of a *Miscanthus x giganteus* crop in different contamination and marginality contexts and (2) to evaluate the effect of *Miscanthus* ash, resulting from the thermal combustion process, on soil quality in an agricultural context to determine if it can be sustainably spread as a soil amendment. A multi-criteria approach was developed, through the analysis of chemical, physical and biological soil properties, with the evaluation of earthworm

communities as a key biological indicator. The effect of *Miscanthus* crop on soil quality was site-dependent and related to soil properties (texture), contamination (MTE) and the history of the site. *M. x giganteus* ash, had no effect on survival, biomass and reproduction of *Aporrectodea caliginosa* but a significant avoidance behaviour was recorded with the addition of 50 t/ha. In a wheat field, applied ash increased the levels of  $P_2O_5$  Olsen and exchangeable  $K_2O$  in the soil without observed negative effects for all studied indicators. This work highlights the heterogeneous effect of *Miscanthus* cultivation on soil quality as well as the value of using its ashes.