



HAL
open science

Approche d'écotoxicologie fonctionnelle par l'étude des interactions sol-plante-annélides en sol contaminé

Olivier Hullot

► **To cite this version:**

Olivier Hullot. Approche d'écotoxicologie fonctionnelle par l'étude des interactions sol-plante-annélides en sol contaminé. Ecotoxicologie. Université Paris-Saclay, 2023. Français. NNT : 2023UPASB012 . tel-04562498

HAL Id: tel-04562498

<https://theses.hal.science/tel-04562498>

Submitted on 29 Apr 2024

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.

Approche d'écotoxicologie fonctionnelle par l'étude des interactions sol-plante- annélides en sol contaminé

*Functional ecotoxicology approach by studying soil-plant-
annelids interactions in contaminated soil*

Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay

École doctorale n° 581 Agriculture, Alimentation, Biologie, Environnement et
Santé (ABIES)

Spécialité de doctorat : Sciences de l'environnement
Graduate School : Biosphera. Référent : Faculté des sciences d'Orsay

Thèse préparée dans l'UMR **ECOSYS** (Université Paris-Saclay, INRAE,
AgroParisTech), sous la direction d'**Isabelle LAMY**, Directrice de recherche,
et le co-encadrement de **Lisa CIADAMIDARO**, Maîtresse de conférences et de
Juliette FABURE, Maîtresse de conférences

Thèse soutenue à Paris-Saclay, le 21 décembre 2023, par

Olivier HULLOT

Composition du Jury

Membres du jury avec voix délibérative

Michel CHALOT Professeur, Université de Franche-Comté	Président
Stefan Mikael MOTELICA-HEINO Professeur, Université d'Orléans	Rapporteur & Examineur
Claudia WIEGAND Professeure, Université de Rennes	Rapporteur & Examinatrice
Amélie CANTAREL Maîtresse de conférences, Université de Lyon 1	Examinatrice
Benoît FERRARI Chercheur, EPFL Lausanne	Examineur

Titre : Approche d'écotoxicologie fonctionnelle par l'étude des interactions sol-plante-annélides en sol contaminé

Mots clés : Contamination diffuse des sols, Ver de terre, Enchytréide, Relation entre les parties souterraines et aérienne du sol, Biofertilisation

Résumé : La contamination des sols est un enjeu environnemental majeur. Une grande partie des sols contaminés en Europe l'est par des éléments traces métalliques (ET). Cela peut affecter les organismes édaphiques, avec souvent pour conséquence une diminution des activités biologiques. Pourtant, plusieurs études ont montré l'importance des relations dites « belowground-aboveground » liant les communautés souterraines et aériennes des sols. Parmi elles, l'une des plus connues est l'interaction sol – plante – ver de terre. Ces derniers sont reconnus pour impacter positivement les fonctions écologiques des sols non contaminés. En effet, ils peuvent augmenter la production primaire des plantes et jouent également un rôle dans la régulation des communautés du sol. Mais dans le cas de sols contaminés, leur rôle reste encore peu documenté. Les enchytréides sont aussi des annélides oligochètes auxquels on attribue le même rôle écologique que les vers de terre. Toutefois, peu d'études étayaient cette hypothèse.

Dans ce travail, nous avons fait l'hypothèse que les connaissances acquises sur les interactions sol – plante – annélides en sol fertile sont transférables en sols contaminés et donc que les annélides peuvent, en interaction avec les plantes, participer à une valorisation de ces sols. Les questions suivantes ont été soulevées : 1/ Quelle est la toxicité à court et long terme de ce sol contaminé sur les organismes ? 2/ Les modifications des fonctions du sol par les organismes peuvent-elles impacter la croissance des plantes ? 3/ Y a-t-il une spatialisation et une temporalité dans l'interaction annélides – plante ? Pour répondre à ces questions, cinq expériences *ex-situ* ont été réalisées. Nous avons utilisé un sol considéré comme marginal de par sa texture sableuse, et contaminé *in-situ* par plusieurs ET (teneurs sublétales en Cu, Zn, Cd). Trois espèces biologiques ont été étudiées seules ou en interaction : le ver de terre *Aporrectodea caliginosa*, un ver de terre endogé communément retrouvé dans les sols agricoles, *Enchytraeus albidus*, un enchytréide à large habitat approprié pour les tests écotoxicologiques, et enfin *Lolium perenne*, une herbe fourragère.

Nous avons ainsi montré une absence de toxicité aiguë lors de l'exposition à long terme des organismes au sol contaminé. En revanche, des effets sublétaux ont été observés sur le long terme chez les vers de terre.

La présence de plantes permet une atténuation partielle de ces effets toxiques, en améliorant le développement et la reproduction des vers de terre. Nous avons également observé une interaction négative entre les vers de terre et les enchytréides, probablement liée à une compétition alimentaire, conduisant à une diminution de la population d'enchytréides dans le sol.

Nous avons aussi montré une amélioration de la production primaire via une augmentation de la biomasse des plantes. Cette augmentation est induite par une amélioration du recyclage des nutriments dans le sol grâce aux activités de bioturbation des vers de terre et des enchytréides. Cette interaction est à la fois masse-dépendante et nécessite une proximité physique entre les racines et les annélides. Lorsque les annélides s'éloignent de la rhizosphère, cet effet bénéfique disparaît. L'étude en rhizotron a notamment révélé une migration en profondeur des enchytréides en présence de vers de terre, entraînant une perte de l'interaction annélides – plantes.

L'augmentation des flux nutritifs s'accompagne également d'une augmentation des flux d'ET dans le sol, avec, dans nos conditions, un fort pouvoir de régulation de ces flux par les plantes. Ainsi, les teneurs internes varient d'un ET à l'autre et d'un organisme à l'autre, ainsi qu'en présence d'interactions entre organismes.

Cette étude montre que, dans nos conditions expérimentales, les connaissances acquises dans les sols non contaminés concernant la biofertilisation peuvent être appliquées aux sols contaminés. Nous avons de plus observé des effets de rétroaction de la plante sur les vers de terre, suggérant l'importance de les prendre en compte pour avancer dans la compréhension des mécanismes sous-jacents aux interactions sol-plante-annélides. Cependant, les flux d'éléments majeurs s'accompagnant à la fois de flux d'ET, leur impact résultant doit être examiné dans tous les compartiments biologiques du système. De plus, l'arrivée de vers de terre exogènes dans un nouveau système pourrait conduire à une érosion de la biodiversité initiale de ces sols. Enfin, les communautés microbiennes pourraient jouer également un rôle crucial dans cette interaction et nécessiteraient des analyses complémentaires pour comprendre leur importance dans cette interaction.

Title : Functional ecotoxicology approach by studying soil-plant-annelids interactions in contaminated soil

Keywords : Soil contamination, Earthworm, Enchytraeid, Belowground-aboveground linkage, Biofertilisation

Abstract : Soil contamination is a major environmental challenge. A large part of the European soils are contaminated by trace elements (TE). This can affect edaphic conditions, including often a decrease in biological activities of organisms. However, several studies have shown the importance of the so-called "belowground-aboveground" relationships that link the underground and aboveground communities of soils. Among them, one of the best-known is the soil – plant – earthworm interaction. This relationship is recognized for positively impacting the ecological functions of uncontaminated soils. Indeed, earthworms can increase the primary production of plants and also play a role in regulating soil communities. However, in the case of contaminated soils, its role is still not well documented. Enchytraeids are also oligochaete annelids that show the same ecological role as earthworms. Nevertheless, few studies support this hypothesis.

In this study, we hypothesized that the knowledge gained on soil – plant – annelid interactions in fertile soil is transferable to contaminated soils and therefore that annelids can, in interaction with plants, participate in the valorization of these soils. The following questions were raised: 1/ What is the short and long-term toxicity of this contaminated soil on organisms? 2/ Can modifications of the soil functions by organisms impact the growth of plants? 3/ Is there a spatialization and temporality in the annelid – plant interaction? In order to answer to these questions, five *ex-situ* experiments were conducted. We used a soil considered marginal due to its sandy texture and contamination with several TE (sublethal levels of Cu, Zn, Cd). Three biological species were studied alone or in interaction: the earthworm *Aporrectodea caliginosa*, an endogeic worm commonly found in agricultural soils, *Enchytraeus albidus*, an enchytraeid with a broad habitat suitable for ecotoxicological tests, and finally *Lolium perenne*, a forage grass.

We thus demonstrated an absence of acute toxicity during long-term exposure of organisms to contaminated soil. However, sublethal effects were observed over the long term in earthworms.

The presence of plants allows a partial attenuation of these toxic effects by improving the development and reproduction of earthworms. We also observed a negative interaction between earthworms and enchytraeids, probably due to food competition, leading to a decrease in the enchytraeid population in the soil.

We finally showed an improvement in primary production through an increase in plant biomass. This increase is induced by an improvement in nutrient recycling in the soil thanks to the bioturbation activities of earthworms and enchytraeids. This interaction is mass-dependent and requires physical proximity between the roots and annelids. When annelids move away from the rhizosphere, this beneficial effect disappears. The rhizotron study in particular revealed a deep migration of the enchytraeids in the presence of earthworms, leading to a loss of the annelid – plant interaction.

The increase in nutrient flows is also accompanied by an increase in the flows of TE in the soil, with, in our conditions, a strong regulatory power of these flows by the plants. Thus, the internal levels vary from one element to another and from one organism to another, as well as in presence of interactions between organisms. This study shows that, in our experimental conditions, the knowledge acquired in uncontaminated soils concerning biofertilization can be applied to contaminated soils. We have furthermore observed plant feedback effects on earthworms, suggesting the importance of taking them into account to advance in understanding the mechanisms associated to soil-plant-annelid interactions. However, the flows of major elements are linked to the flows of TE, for this reason their resulting impact must be examined in all the biological compartments of the system. Moreover, the arrival of exogenous earthworms into a new system could lead to erosion of the initial biodiversity of these soils. Finally, microbial communities could also play a crucial role in this interaction and would require additional analyses to understand their importance in this interaction.

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à remercier Isabelle Lamy, Lisa Ciadamidaro et Juliette Faburé pour la confiance qu'elles m'ont accordée. Merci pour votre disponibilité ainsi que pour tous les échanges et encouragements que vous m'avez prodigués. Vos questionnements et vos précieux avis m'ont aidé à forger le mien, sans jamais imposer le vôtre.

Merci à tous les membres du comité de pilotage qui ont accepté d'y participer : Annette Berard, Nathalie, Frascaria-Lacoste, Markus Puschenreiter et Frédéric Rees. Vos différents points de vue et les discussions qui en ont découlé ont grandement contribué à ce travail. Merci particulièrement à Markus Puschenreiter de m'avoir accueilli dans son laboratoire de l'Université de BOKU (Vienne, Autriche) ainsi qu'à tout le personnel de l'*Institut für Bodenforschung* pour leur aide sur les analyses DGT et leur accueil. Merci également à Frédéric Rees pour tous les échanges autour de la physiologie des plantes.

Un grand merci à Amélie Trouvé et Sébastien Breuil pour avoir réalisé les analyses chimiques des différentes expérimentations et également pour leurs conseils techniques lors de l'élaboration des designs expérimentaux. Merci à Eric Vachet pour la mesure des nutriments dans l'eau interstitielle du sol. Merci à Véronique Etiévant pour tout le travail et l'expertise sur l'élevage des vers de terre. Merci à Antoine Bamière pour son aide sur les prélèvements de sols notamment sur le site de Chanteloup-les-Vignes, les échanges sur la faune du sol et la découverte de nombreux jeux de mots. Merci à Lucas Petit-Dit-Grézériat pour son aide sur l'expérimentation en rhizotron et nos discussions sur la faune du sol. Merci aux stagiaires qui ont participé aux différentes expérimentations : Audrey Huang, Ludovic Faravel et Marie François-Marsal. Merci à Adrien Blanchard, pour nos échanges sur les enchytréides et le partage de nos expériences de doctorants. Merci à ma partenaire de bureau lors de ces trois années, Juliette Sarrazin, de m'avoir soutenu et les discussions passionnées lors des cafés. Merci également à tout le personnel permanent et non permanent de l'unité EcoSys avec qui j'ai pu échanger au cours de ces trois années. Merci de m'avoir permis de travailler dans les meilleures conditions et les moments conviviaux passés ensemble.

Merci également à l'école doctorale ABIES pour l'attribution de la bourse doctorale ainsi que le projet européen H2020 "MAGIC" pour le financement des recherches et publications scientifiques.

Merci à tous mes amis pour leur soutien et leur encouragement, leur oreille attentive et les moments passés ensemble. En particulier, merci à Elise Dercourt et Léo Balembois. Enfin merci à ma famille pour absolument tout. Et à mon petit loup : Léa Bouchu.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	III
TABLE DES MATIERES	IV
LISTE DES ABREVIATIONS	VII
CONTEXTE ET OBJECTIFS	1
1. CHAPITRE 1 : ÉTAT DE L'ART.....	6
1.1 LA PROBLEMATIQUE DES SOLS CONTAMINÉS.....	6
1.1.1 <i>La contamination des sols par les éléments en trace</i>	6
1.1.2 <i>La présence d'ET perturbe le fonctionnement des sols</i>	8
1.1.3 <i>Impact des ET sur les cycles biogéochimiques assurés par les sols</i>	11
1.2 IMPORTANCE DES INTERACTIONS 'BELOWGROUND-ABOVEGROUND' DANS LE FONCTIONNEMENT DES SOLS	14
1.2.1 <i>Les vers de terre, des organismes ingénieurs du sol</i>	15
1.2.2 <i>Les enchytréides, des organismes alliés ou compétiteurs des vers de terre ?</i>	17
1.3 UNE APPROCHE D'ECOTOXICOLOGIE FONCTIONNELLE POUR QUANTIFIER LES DYSFONCTIONNEMENTS DES SOLS	18
1.3.1 <i>La disponibilité environnementale</i>	19
1.3.2 <i>La biodisponibilité environnementale</i>	19
1.3.3 <i>La biodisponibilité toxicologique</i>	19
2. CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODE.....	21
2.1 DESCRIPTION DES SOLS UTILISÉS	21
2.1.1 <i>Substrat horticole témoin pour la croissance des plantes - tourbe - non contaminé</i>	21
2.1.2 <i>Sol d'élevage des vers de terre - Closeaux (CLX) - non contaminé</i>	21
2.1.3 <i>Sol experimental - Chanteloup-les-Vignes (CHV) – contaminé</i>	22
2.2 DESCRIPTION DU MATERIEL BIOLOGIQUE	23
2.2.1 <i>Lolium perenne (L. perenne) – plante</i>	23
2.2.2 <i>Aporrectodea caliginosa (A. caliginosa) - ver de terre</i>	24
2.2.3 <i>Enchytraeus albidus (E. albidus) – enchytréide</i>	24
2.3 DESIGN EXPERIMENTAL.....	24
2.3.1 <i>Expérience A : Mise en évidence des interactions ver de terre - plantes en sol contaminé et conditions sublétales</i>	24
2.3.2 <i>Expérience B : Étude des flux d'éléments dans les interactions vers – plantes</i>	29
2.3.3 <i>Expérience C : Étude transgénérationnelle de l'effet de l'activité des annélides sur les plantes en sol contaminé</i>	35
2.3.4 <i>Expérience D : Étude de l'héritage de l'activité des vers de terre dans un sol contaminé sur les plantes</i>	39
2.3.5 <i>Expérience E : Lien entre la Localisation des Annélides et leurs effets sur les plantes en début de croissance</i>	42
3. CHAPITRE 3 : LES INTERACTIONS VERS DE TERRE - PLANTES DANS UN SOL CONTAMINÉ	46
3.1 MISE EN EVIDENCE DES INTERACTIONS VERS DE TERRE - PLANTES DANS UN CONTEXTE DE SOL CONTAMINÉ	47
3.1.1 <i>Validation des conditions sublétales</i>	47
3.1.2 <i>Mise en évidence de l'interaction vers de terre - plantes</i>	54
3.2 LES FLUX IMPLIQUÉS DANS L'INTERACTION ENTRE LES VERS DE TERRE ET LES PLANTES DANS UN CONTEXTE CONTAMINÉ.....	64
3.2.1 <i>Effet des annélides et des plantes sur les caractéristiques du sol et de l'eau interstitielle du sol</i>	64
3.2.2 <i>Effet des plantes et des vers de terre sur les flux nutritifs</i>	67

3.2.3	<i>Effet des plantes et des vers de terre sur les flux d'éléments traces métalliques.....</i>	72
3.2.4	<i>Relation entre les paramètres physico-chimiques du sol et la biodisponibilité des éléments.....</i>	75
3.2.5	<i>Effet des annélides sur la croissance des plantes.....</i>	79
3.2.6	<i>Relation entre la croissance des plantes et les flux d'éléments.....</i>	79
3.3	CONCLUSION PARTIELLE	81
4.	CHAPITRE 4 : MAINTIEN DE L'INTERACTION ENTRE LES VERS DE TERRE ET LES PLANTES SUR UNE LONGUE PERIODE DE TEMPS	82
4.1	EFFET DES PLANTES SUR LE DEVELOPPEMENT DES VERS DE TERRE EXPOSES OU NON A LA CONTAMINATION SUR TROIS GENERATIONS.	83
4.1.1	<i>Influence de la présence de plantes et de la contamination sur le développement des vers de terre.</i>	83
4.1.2	<i>Effet de la présence des plantes et de la contamination sur la reproduction des vers de terre.....</i>	91
4.2	EFFET DES VERS DE TERRE SUR LE SOL ET LES PLANTES A TRAVERS LES GENERATIONS.....	94
4.2.1	<i>Modification des caractéristiques du sol par les vers de terre au cours de la première génération.....</i>	94
4.2.2	<i>Modification de la croissance des plantes par les vers de terre au cours de la première génération.....</i>	97
4.2.3	<i>Evolution des indicateurs au cours des générations.....</i>	101
4.3	CONCLUSION PARTIELLE	109
5.	CHAPITRE 5 : HERITAGE DE L'ACTIVITE DES VERS DE TERRE SUR LE SOL.....	111
5.1	EVOLUTION DES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DU SOL ET DE L'EAU INTERSTITIELLE APRES LE RETRAIT DES VERS DE TERRE ...	113
5.1.1	<i>Résultat : Evolution du pH et de la conductivité du sol.....</i>	113
5.1.2	<i>Résultats : Évolution du pH, de la conductivité et du carbone organique dissous de l'eau interstitielle.....</i>	114
5.1.3	<i>Discussion : Persistance des modifications du sol par les vers de terre.....</i>	115
5.2	ÉVOLUTION DES FLUX NUTRITIFS APRES LE RETRAIT DES VERS DE TERRE	118
5.2.1	<i>Disponibilité environnementale des nutriments.....</i>	118
5.2.2	<i>Biodisponibilité environnementale des nutriments.....</i>	120
5.2.3	<i>Discussion : Persistance de l'effet des vers de terre sur les flux de nutriments.....</i>	122
5.3	ÉVOLUTION DES FLUX D'ELEMENTS TRACES METALLIQUES APRES LE RETRAIT DES VERS DE TERRE	124
5.3.1	<i>Disponibilité environnementale des éléments traces métalliques.....</i>	124
5.3.2	<i>Biodisponibilité environnementale des éléments traces métalliques.....</i>	127
5.3.3	<i>Discussion : persistance de l'effet des vers de terre sur les flux d'éléments traces métalliques.....</i>	129
5.4	RELATIONS ENTRE LES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES DU SOL, LA DISPONIBILITE ENVIRONNEMENTALE ET LA BIODISPONIBILITE DES ELEMENTS.	131
5.1	PERSISTANCE DE L'EFFET DES ANNELIDES SUR LA CROISSANCE DES PLANTES.....	133
5.1.1	<i>Résultats : Poids des parties aériennes et souterraines des plantes.....</i>	133
5.1.2	<i>Relation entre la croissance des plantes et les flux d'éléments.....</i>	134
5.1.3	<i>Discussion : Trois éléments affectent la croissance des plantes.....</i>	135
5.2	CONCLUSION PARTIELLE	135
6.	CHAPITRE 6 : LES ENCHYTREIDES, UN NOUVEL ORGANISME POUR L'INTERACTION PLANTE - ANNELIDES	137
6.1	INTERACTION ENCHYTREIDES - PLANTES.....	138
6.1.1	<i>Densité des enchytréides et bioaccumulation des éléments traces métalliques.....</i>	138
6.1.2	<i>Évolution des caractéristiques physico-chimiques du sol et de l'eau interstitielle en présence d'enchytréides</i> <i>141</i>	
6.1.3	<i>Effet des enchytréides sur les flux nutritifs.....</i>	144
6.1.4	<i>Effet des enchytréides sur les flux d'ET.....</i>	148
6.1.5	<i>Relation entre les paramètres physico-chimiques du sol, la disponibilité environnementale et la biodisponibilité des éléments.....</i>	152
6.1.6	<i>Effet des enchytréides sur la croissance des plantes.....</i>	155
6.1.7	<i>Relation entre la croissance des plantes et les flux d'éléments.....</i>	156
6.2	POTENTIEL DES ENCHYTREIDES DANS L'AMPLIFICATION DE L'EFFET DES VERS DE TERRE SUR LA CROISSANCE DES PLANTES.....	157

6.2.1	<i>Densité des enchytréides et bioaccumulation des éléments traces métalliques</i>	157
6.2.2	<i>Effets des interactions entre deux groupes d'annélides sur les caractéristiques physico-chimiques du sol et de l'eau interstitielle en présence d'enchytréides</i>	159
6.2.3	<i>Effet de l'interaction des deux groupes d'annélides sur les flux nutritifs</i>	161
6.2.4	<i>Effet de l'interaction des deux groupes d'annélides sur les flux d'éléments traces métalliques</i>	165
6.2.5	<i>Effet de l'interaction entre les annélides sur la croissance des plantes</i>	171
6.3	CONCLUSION PARTIELLE	172
7.	CHAPITRE 7 : IMPORTANCE DE LA LOCALISATION DES ORGANISMES POUR L'INTERACTION ANNELIDES - PLANTE	
	174	
7.1	ÉVOLUTION DE LA BIOMASSE ET TAUX DE SURVIE DES ORGANISMES PENDANT L'EXPERIENCE	175
7.1.1	<i>Résultats : Poids et taux de survie des annélides</i>	175
7.1.2	<i>Discussion : La présence de vers de terre impact le développement des enchytréides</i>	176
7.2	DISTRIBUTION DES ORGANISMES DANS LES COUCHES DE SOL TOUT AU LONG DE L'EXPERIENCE	179
7.2.1	<i>Résultats : Activité des vers de terre dans les couches de sol tout au long de l'expérience</i>	179
7.2.2	<i>Résultat : Distribution des enchytréides dans les couches de sol à la fin de l'expérimentation</i>	179
7.2.3	<i>Résultat : Colonisation des couches de sol par les racines à la fin de l'expérimentation</i>	181
7.2.4	<i>Discussion : Colonisation du sol par les organismes</i>	181
7.3	IMPACT DES ORGANISMES SUR LES PROPRIETES DU SOL ET LA CROISSANCE DES PLANTES	183
7.3.1	<i>Résultat : Évolution du pH et de la conductivité du sol dans différentes strates entre le début et la fin de l'expérimentation</i>	183
7.3.2	<i>Paramètres physiologiques des plantes</i>	186
7.3.3	<i>Lien entre la présence d'annélides dans les couches racinaires et la croissance des plantes</i>	186
7.3.4	<i>Discussion : Relation entre la localisation des annélides et la croissance des plantes</i>	187
7.4	CONCLUSION PARTIELLE	187
8.	CHAPITRE 8 : DISCUSSION GENERALE	189
8.1	EXPOSITION DE LA PLANTE A UN SOL CONTAMINE	189
8.2	EN ABSENCE DE PLANTES, LES ANNELIDES AUGMENTENT LES FLUX D'ÉLEMENTS VIA DES MECANISMES DIFFERENTS POUR LES DEUX GROUPES ETUDIÉS. 191	
8.2.1	<i>Augmentation des flux de contaminants par les vers de terre</i>	191
8.2.2	<i>Augmentation des flux nutritifs par les vers de terre</i>	192
8.2.3	<i>Augmentation des flux d'élément par les enchytréides</i>	194
8.3	ROLE REGULATEUR DES PLANTES SUR LES FLUX D'ÉLEMENTS.....	195
8.4	EST-CE QUE L'INTERACTION ENTRE ANNELIDES ET PLANTES EST UNE COÏNCIDENCE DEPENDANTE DES INTERACTIONS SOUTERRAINES ("BELOWGROUND")?	197
	CONCLUSION GENERALE	199
	ANNEXE 1 – PUBLICATION : THE EFFECT OF EARTHWORM ON PLANT RESPONSE IN METAL CONTAMINATED SOIL FOCUSING ON BELOWGROUND-ABOVEGROUND RELATIONSHIP	201
	BIBLIOGRAPHIE	l

LISTE DES ABREVIATIONS

- BAF** : *Bioaccumulation factor* – Facteur de bioaccumulation
- CHV** : Sol expérimental issu de la plaine de Chanteloup-les-Vignes (Île-de-France, France)
- CLX** : Sol d'élevage issu du site expérimental des Closeaux (Versailles, Île-de-France, France)
- COD** : Carbone organique dissous
- CRE** : Capacité de rétention en eau
- Ea** : Condition expérimentale avec des vers de terre
- EaEn** : Condition expérimentale avec des vers de terre et des enchytréides
- EaEnL** : Condition expérimentale avec des vers de terre, des enchytréides et des plantes
- EaL** : Condition expérimentale avec des vers de terre et des plantes
- EDTA** : Acide éthylène diamine tétra-acétique
- En** : Condition expérimentale avec des enchytréides
- EnL** : Condition expérimentale avec des enchytréides et des plantes
- EPT** : Élément(s) potentiellement toxique(s)
- ET** : Élément(s) trace(s) métallique(s)
- NC** : Condition non contaminée
- FPGN** : Fond pédogéochimique naturel
- SPW** : *Soil pore water* – Eau interstitielle du sol

CONTEXTE ET OBJECTIFS

Le sol est une composante clé de l'environnement (Blum, 2005). Il est le lieu de processus biogéochimiques soutenant des fonctions écologiques d'intérêt pour nos sociétés. Dans un contexte agricole, l'une des principales fonctions est la production primaire, pilotée par les activités des (micro)organismes du sol. Selon leur présence ou leur activité, une partie des organismes édaphiques peut influencer ces processus du sol dans le sens d'une amélioration de la production de biomasse aérienne des plantes (Blouin et al., 2013 ; Richardson & Simpson, 2011 ; Brown et al., 2004 ; Richardson, 2001). Parmi ces organismes, l'effet de l'activité des vers de terre (Lumbricina) sur l'amélioration de la croissance des plantes a été largement observé et étudié dans les sols non contaminés (van Groenigen et al., 2014). Ces interactions "ver-plante" font partie des interactions dites "belowground-aboveground", c'est-à-dire des interactions liant les communautés souterraines (ou édaphiques) et les communautés aériennes. Si ces interactions sont bien documentées en sol non contaminé, les connaissances sont plus éparses pour les sols contaminés, notamment ceux où la contamination reste faible, diffuse et sublétales pour les organismes.

La contamination des sols peut être d'origine naturelle ou anthropique. Ainsi, l'augmentation des concentrations en contaminants peut être liée à des dépôts atmosphériques, à l'épandage d'eaux usées, à l'utilisation de produits solides ou liquides contaminés tels que les engrais, les boues de station d'épuration, les pesticides, etc. (Edwards, 2002). La présence de ces contaminants dans le sol peut se traduire par un appauvrissement de la vie biologique des sols, ainsi que par une diminution des activités des organismes (Touceda-González et al., 2017 ; Nahmani et al., 2003 ; Paoletti et al., 1998). Cela peut conduire à une réduction des processus écologiques et des interactions écologiques dans les sols (López-García et al., 2018).

Dans le contexte des sols contaminés, des études récentes ont mis en évidence une tolérance variable des organismes édaphiques à la contamination, ainsi qu'une persistance des interactions écologiques dans lesquelles ces organismes sont impliqués (Elbsern et al., 2017). Plusieurs recherches ont également montré que la réhabilitation des sols contaminés, en stimulant les

Contexte et objectifs

interactions écologiques, est possible (Kardol & Wardle, 2010 ; Wardle & Peltzer, 2007 ; Hooper et al., 2000). Pour ce faire, des techniques de biofertilisation peuvent être envisagées, telles que l'inoculation de champignons mycorhiziens pour faciliter la réintroduction de communautés végétales spécifiques (Eschen et al., 2009 ; Richter & Stutz, 2002), ou encore l'inoculation de vers de terre pour stimuler la production primaire (Blanchart et al., 2020 ; Wang et al., 2006 ; Yu et al., 2005). Cependant, l'introduction de vers de terre dans de nouveaux écosystèmes peut être associée à des modifications des communautés du sol, pouvant aller jusqu'à une érosion de la biodiversité du sol (Ferlian et al., 2018 ; Topoliantz et al., 2000). La stimulation des interactions écologiques par introduction d'organismes clés dans les sols soulève encore de nombreuses questions, notamment dans les sols contaminés où les organismes sont à la fois cibles mais aussi acteurs vis-à-vis des contaminants.

En effet, les organismes du sol jouent un rôle essentiel en tant que moteurs et catalyseurs des différentes fonctions du sol (Constantini & Priori, 2023 ; Frazão et al., 2023). Parmi ces organismes, les annélides (Annelida) occupent une place significative dans la biodiversité du sol (Lavelle & Spain, 2001 ; Lavelle, 1997). Ils se nourrissent principalement de microorganismes et de résidus organiques, tels que la litière végétale, les débris d'animaux, et la matière organique du sol (Pelosi & Römcke, 2016 ; Brown et al., 2004). Leur activité qui consiste à ingérer des quantités considérables de sol crée un réseau complexe de galeries. Ce travail du sol influence la structure, l'aération et les propriétés hydrauliques du sol (Blouin et al., 2013). De plus, en revêtant leurs galeries de matière organique et en concentrant celle-ci dans leurs turricules (déjections des annélides mélangeant une fraction organique et une fraction minérale du sol), les annélides créent des microhabitats qui deviennent des foyers d'activité (micro)biologique dans le sol (Pelosi et Römcke, 2016 ; Blouin et al., 2013 ; Turbé et al., 2010).

En transformant la litière végétale et la matière organique du sol, ces organismes favorisent le recyclage des nutriments dans le sol. Il en est ainsi des vers de terre, annélides oligochètes (*Annelida, Oligochaeta*) appartenant principalement à la macrofaune (Barrios, 2007) mais aussi des vers de la famille des enchytréides (*Enchytraeidae*) appartenant à la mésofaune (Pelosi & Römcke, 2016). On attribue souvent aux enchytréides un rôle fonctionnel proche des vers de terre mais en travaillant le sol à une échelle spatiale plus petite (van Vliet et al., 2004 ; van Vliet

et al., 1993). A travers leur activité fousseuse, les vers de terre sont capables d'augmenter la croissance des plantes et notamment la production de biomasse aérienne dans de nombreux sols, à la fois tropicaux et tempérés (van Groenigen et al., 2014, Blouin et al., 2013, Brown et al., 2004). Cet effet sur la croissance se fait notamment via deux processus principaux : 1/ l'augmentation de la biodisponibilité des nutriments pour les plantes, et 2/ l'amélioration de la structure du sol. Mais dans le cas de sols contaminés, ces changements de biodisponibilité s'adresseront aussi aux contaminants, modifiant ainsi l'exposition de ces derniers pour les organismes, avec des conséquences non encore prévisibles. L'écotoxicologie, discipline qui étudie le devenir et l'impact des contaminants dans les écosystèmes utilise entre autres ces deux groupes, vers de terre et enchytréides, comme modèles biologiques pour des tests normés. Cependant ces tests ne tiennent pas compte des interactions entre espèces dans les milieux.

Ainsi, dans un contexte de sol faiblement contaminé de manière diffuse, et en conditions sublétales, l'objectif de cette thèse est de comprendre comment, au travers de leurs interactions, les organismes participent à la modification du fonctionnement de ces sols. L'enjeu de ce travail est double : acquérir des connaissances sur les sols cultivés en milieu contaminé, et renseigner la manière de gérer durablement ces sols.

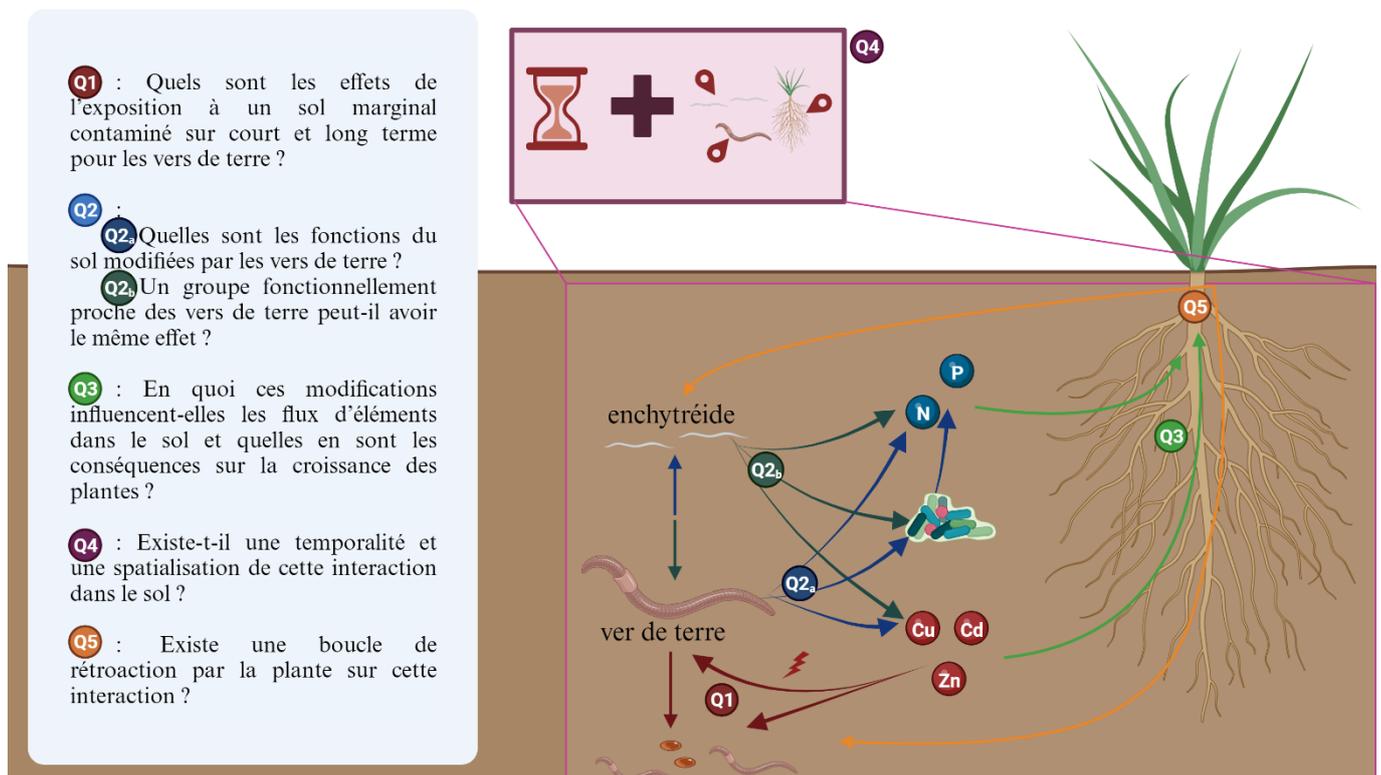


Figure 0.1: Présentations des questions scientifiques

Contexte et objectifs

Les questions générales que nous avons abordées dans ce travail sont (Fig 0.1) :

- 1/ Quels sont les effets sur les activités des vers de l'exposition à un sol contaminé sur le court et le long terme ?
- 2a/ Comment certaines fonctions du sol sont modifiées par la présence de vers en sol contaminé ? Et 2b/ Quel est l'impact de l'interaction de deux groupes de vers fonctionnellement proches ?
- 3/ En quoi ces interactions influencent-elles les flux d'éléments dans le sol et quelles en sont les conséquences sur la croissance des plantes ?
- 4/ Existe-t-il une temporalité et une spatialisation de ces interactions dans le sol ?
- 5/ Peut-on mettre en évidence une boucle de rétroaction par la plante sur ces interactions ?

Le chapitre 1 fera d'abord l'état des connaissances sur la problématique des sols contaminés et sur l'importance des relations dites "belowground-aboveground" dans le fonctionnement des sols. Ensuite, nous aborderons la façon dont une approche d'écotoxicologie fonctionnelle permet de quantifier les dysfonctionnements du sol et comment la biofertilisation peut être un outil pour restaurer les interactions dans ces sols.

Le chapitre 2 présentera les modèles biologiques choisis ainsi que les cinq expériences qui ont été réalisées. La première expérience (Expérience A, Exp A) en microcosme avait pour objectif de valider l'existence d'interactions entre les vers de terre et les plantes dans un sol contaminé, tout en explorant les conditions sublétales de l'étude. Une seconde expérimentation (Expérience B, Exp B) en microcosme a été menée pour étudier les flux nutritifs et de contaminants impliqués dans cette expérimentation, tant par les vers de terre que par les enchytréides. La troisième expérience (Expérience C, Exp C) s'est intéressée à la fois au maintien d'une amélioration de la croissance des plantes sur plusieurs générations de vers de terre et à l'effet rétroactif des plantes sur le développement et la reproduction des vers de terre dans un sol marginal. La quatrième expérience (Expérience D, Exp D) visait à examiner l'héritage de l'activité des annélides sur le sol et son incidence sur la croissance des plantes. Enfin, la dernière expérimentation (Expérience E, Exp E) a exploré la spatialisation de l'interaction entre les annélides et les plantes en utilisant un dispositif de rhizotron.

Les chapitres 3, 4 et 5 se concentrent sur la caractérisation de l'interaction entre les plantes et les vers de terre. Nous examinerons l'effet de l'exposition à un sol contaminé sur les vers de terre à court terme (Q1, chapitre 3) et à long terme (Q1, Chapitre 4), ainsi que l'effet rétroactif des

plantes sur les vers de terre (Q5, Chapitre 4). De même, nous étudierons les modifications des fonctions du sol provoquées par les vers de terre (Q2a) et les flux d'éléments qui en découlent (Q3) lorsque les vers de terre et les plantes coexistent dans le même microcosme (Chapitre 3) ou se succèdent (Chapitre 5). Enfin, nous caractériserons l'effet des vers de terre sur les plantes, tant au sein de la vie d'un même ver que sur plusieurs générations (Q4).

Les chapitres 6 et 7 se pencheront sur la proximité fonctionnelle entre les enchytréides et les vers de terre. Nous examinerons l'effet des enchytréides sur les modifications des fonctions du sol (Q2b) et leurs conséquences sur les flux d'éléments dans le sol (Q3) (Chapitre 6). De plus, nous étudierons les interactions entre les enchytréides et les vers de terre et leurs répercussions sur les flux d'éléments dans le sol (Q2 et Q3), ainsi que l'importance de la proximité entre les annélides et le système racinaire (Q4) (Chapitre 7).

Enfin, le chapitre 8 discutera de l'importance de chaque organisme (vers de terre, enchytréides, plantes) dans ces interactions, ainsi que de l'interdépendance entre les organismes.

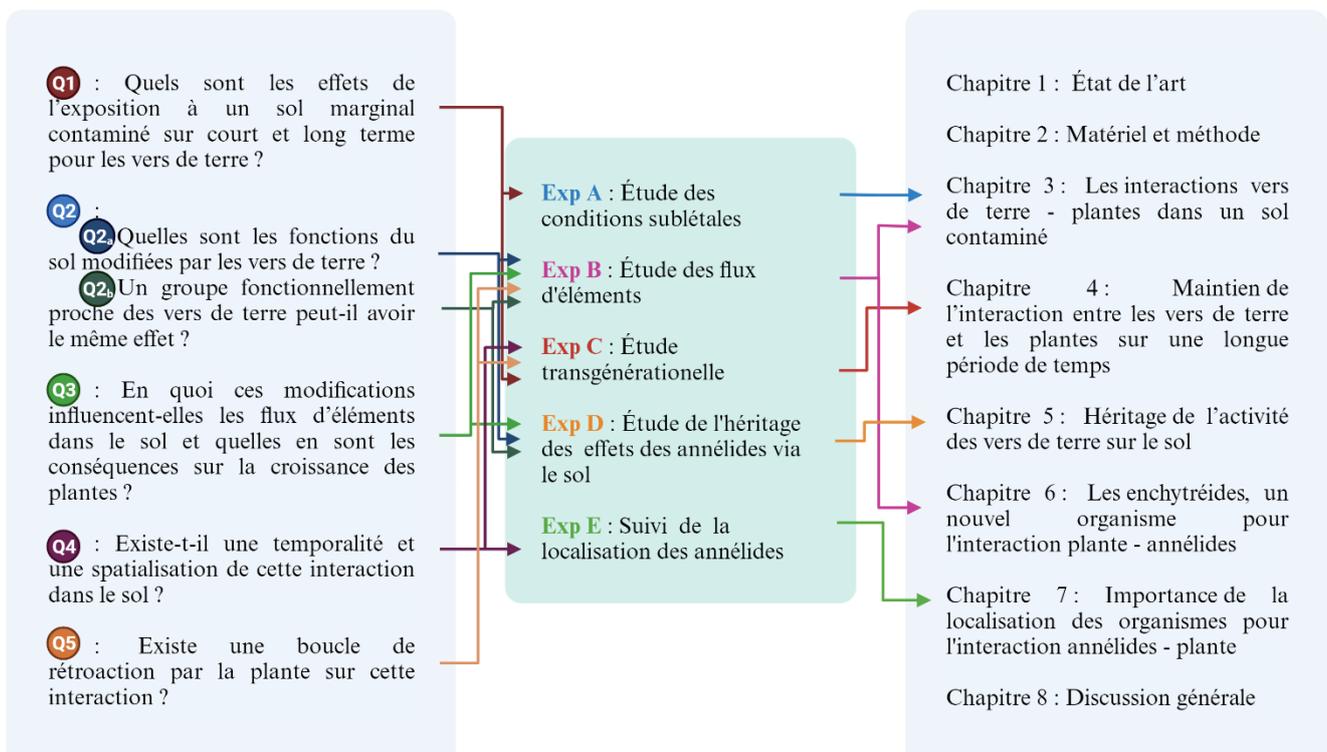


Figure 0.2 : schéma récapitulatif du lien entre les questions scientifiques, les expériences et les chapitres

1. CHAPITRE 1 : ÉTAT DE L'ART

1.1 LA PROBLEMATIQUE DES SOLS CONTAMINÉS

1.1.1 La contamination des sols par les éléments en trace

Le sol, ou pédosphère, est un milieu ouvert situé à l'interface de quatre grands domaines : la lithosphère, l'atmosphère, l'hydrosphère et la biosphère (Fig. 1.1) (Costantini et al., 2023 ; Girard et al., 2005a). Les sols sont traversés par divers flux et sont influencés par ces domaines, mais ils ont également la capacité de les influencer en retour. Par exemple, les sols sont soumis aux précipitations, ce qui détermine leur état hydrique, mais ils contribuent également au cycle de l'eau en restituant une partie de celle-ci à l'atmosphère par le biais de l'évapotranspiration (Blouin et al., 2013). En tant qu'interfaces dynamiques, les sols jouent un rôle essentiel en tant que puits et sources d'éléments, incluant des éléments potentiellement toxiques (EPT). Ces éléments peuvent provenir de l'altération de la roche-mère, de dépôts atmosphériques ou être introduits dans le sol par des pratiques culturales (Costantini et al., 2023 ; Elbsersen et al., 2017 ; Girard et al., 2005a).

La dégradation des sols due à la présence d'EPT est devenue un enjeu environnemental majeur. En effet, au cours des dernières décennies, le nombre de sites contaminés en Europe a augmenté, avec 2.5 millions de sites contaminés identifiés, couvrant environ 1.2 million de kilomètres carrés. On estime également que 28 % des sols agricoles d'Europe (Toth et al., 2016) pourraient être contaminés par au moins une substance chimique. Parmi ces sites contaminés, la moitié présente une contamination par des éléments traces métalliques (ET) (Panagos et al., 2013). Dans ce travail, nous nous sommes particulièrement intéressés à ce type de contamination.

Le sol est un milieu hétérogène et structuré. Il peut être divisé en deux grandes catégories : une partie biotique composée de toute la fraction vivante (microorganismes, pédofaune, parties souterraines des plantes, etc.) et une partie abiotique.

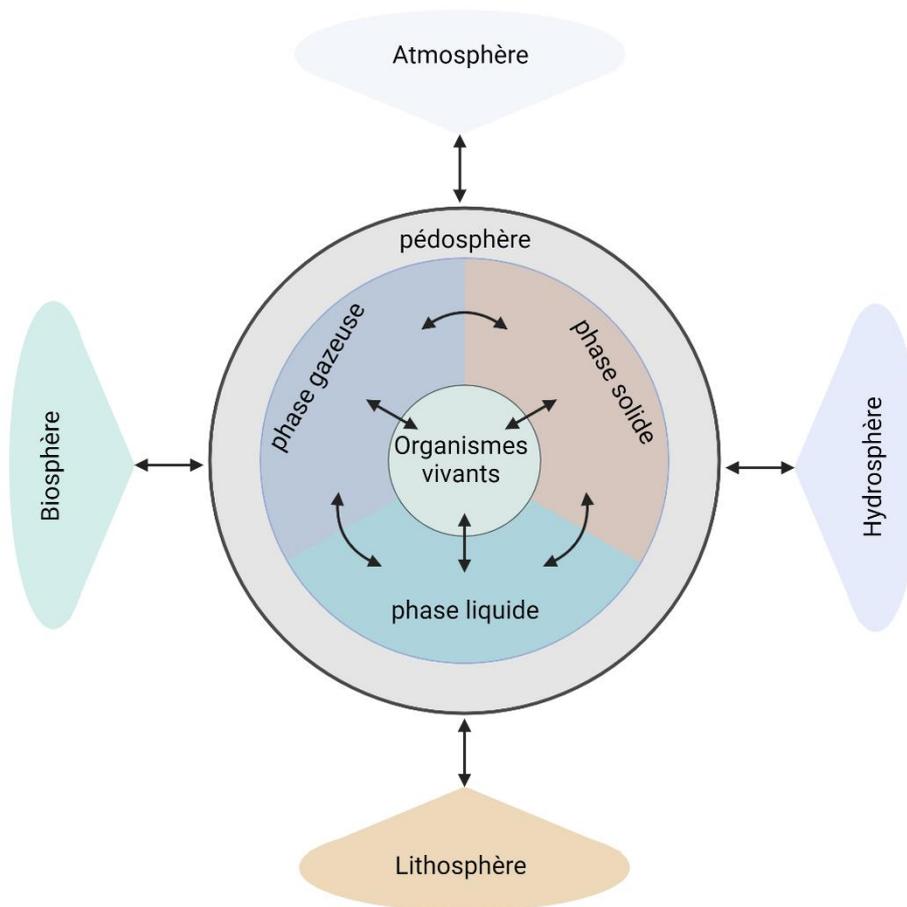


Figure 1.1 : Schéma conceptuel de la pédosphère : située à la rencontre de la lithosphère, de l'hydrosphère, de l'atmosphère et de la biosphère, elle est divisée en trois fractions. On retrouve ainsi les fractions solides, liquides et gazeuses. Les organismes vivants abrités par la pédosphère influencent ainsi ces différentes phases, dont les effets peuvent eux-mêmes influencer sur les quatre grandes sphères (d'après Girard et al., 2005^a)

Un élément est considéré comme un élément en trace lorsque son abondance sur Terre est inférieure à 0.1 %, en opposition aux éléments dits majeurs dont l'abondance est supérieure à cette valeur (Goni & LeLeu, 1980). En tant que contaminants, les ET dans les sols se distinguent des contaminants organiques par leur caractère non biodégradable, ce qui les prédispose à s'accumuler. De plus, contrairement aux contaminants organiques tels que les pesticides ou les produits pharmaceutiques, les ET sont initialement présents dans les sols à des concentrations variables, dépendant des teneurs géogènes de la roche-mère à partir de laquelle les sols se forment (Pelletier & Campbell, 2008). Ces teneurs, généralement faibles, font partie du bruit de fond naturel ou fond pédogéochimique naturel (FPGN), qui varie spatialement en fonction de la

Chapitre 1 : État de l'art

nature de la roche-mère et du type de sol (voir tableau 1.1). Des concentrations en ET supérieures au FPGN local indiquent une contamination. Cette contamination des sols est principalement due à des activités humaines, telles que les émissions industrielles (dépôts aériens) ou les pratiques agricoles (fertilisation et utilisation d'amendements organiques).

Tableau 1.1.1: Gamme de valeurs ordinaires de teneurs totales en ET du FPGN des sols en France (extraits d'après www.denis-baize.fr/etm/index.html)

Concentration (mg.kg ⁻¹)	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
Gamme	0.05 - 0.45	10 - 90	2 - 20	2 - 60	9 - 50	10 - 100
Moyenne	0.4	41.6	17.4	24.1	30.4	68

Parmi les ET, on distingue deux groupes : les éléments dits essentiels et les éléments dits non essentiels. Les éléments essentiels, tels que le Cu, le Zn, le Co ou le Cr, jouent un rôle dans les processus biologiques des organismes. Leur absence peut provoquer des carences, tandis que leur présence en excès peut entraîner des phénomènes de toxicité. En revanche, les éléments non essentiels, comme le Cd ou le Pb, ne sont pas connus pour avoir des fonctions biologiques essentielles, et même à de faibles concentrations, leur présence peut provoquer des phénomènes de toxicité (Elyamine et al., 2018 ; Hell & Mendel, 2010 ; Suthar et al., 2008).

1.1.2 La présence d'ET perturbe le fonctionnement des sols

Le sol est un milieu dynamique, traversé par de nombreux flux, qui abrite une grande partie de la biodiversité terrestre. Grâce à l'interaction entre la biodiversité qu'il héberge et ses caractéristiques physiques et chimiques, le sol remplit quatre fonctions écologiques majeures : 1/ la dynamique des matières carbonées, 2/ le recyclage des nutriments, 3/ le maintien de la structure du sol et 4/ la régulation des pathogènes (Brussaard et al., 2007 ; Lavelle et al., 2006). Ces fonctions combinées sous-tendent trois importantes fonctions socio-économiques appelées fonctions écologiques (Blum, 2005) : 1/ la promotion de la croissance des plantes, qu'elles poussent à l'état sauvage ou qu'elles soient cultivées, ce qui en fait une source d'alimentation, de biomasse pour la construction, la production d'énergie, ainsi que des matières premières pour

l'industrie (Kang et al., 2013) ; 2/ la filtration et la rétention des éléments, 3/ l'accueil de la biodiversité. Ce sont ces trois fonctions qui susciteront un intérêt particulier dans cette étude.

La croissance des plantes : le sol joue un double rôle dans leur maintien et leur développement. Il sert à la fois de support d'ancrage grâce au système racinaire des plantes, mais il est également la source de nutriments et d'eau nécessaires à leur croissance. Cependant, en cas de contamination par les ET, certaines études montrent une réduction de la croissance et des rendements des plantes, voire les rendent impropres à la consommation (Hussain et al., 2020 ; He et al., 2005). Néanmoins, des études récentes montrent que certaines plantes peuvent se développer et accumuler des concentrations élevées en ET sur des sites contaminés sans présenter de symptômes de toxicité sévère (Balafrej et al., 2020 ; Krzciuk & Galuszka, 2015 ; Sarma, 2011 ; Baker et al., 2000). Cependant, la faible productivité des plantes et la nécessité de limiter la diffusion des contaminants dans l'environnement restent deux problèmes majeurs pour la valorisation économique des sites contaminés (Kang et al., 2013 ; Elbsern et al., 2017).

Filtration et rétention des éléments : le sol est un compartiment impliqué dans de nombreux cycles biogéochimiques. Ainsi, il influence l'écoulement, la rétention et la composition des eaux continentales, participe aux cycles des éléments nutritifs et des polluants, ainsi qu'au cycle du carbone. Le sol sert de réservoir en eau pour répondre aux besoins quotidiens des plantes et de nombreux animaux. Il est également traversé par l'ensemble des eaux accumulées dans les nappes phréatiques et celles circulant dans les rivières. Les caractéristiques physiques et chimiques du sol influencent à la fois le devenir de l'eau (ruissellement vs infiltration), la quantité d'eau retenue, sa vitesse d'écoulement et, enfin, sa composition par le biais d'échanges de capture/relargage d'éléments. Le sol est également composé de matière organique, apportée à la fois par l'activité des organismes vivants et par la décomposition des cadavres de ces organismes. Cette matière organique constitue à la fois une source d'éléments nutritifs pour les êtres vivants lors de sa décomposition, ainsi qu'un filtre capable de retenir une quantité significative de cations, qu'elle peut relarguer ou échanger progressivement. En raison de l'enfouissement de la matière organique par les organismes, de son incorporation dans des agrégats stables, ou de sa minéralisation par les organismes, la matière organique des sols joue un rôle essentiel dans le cycle du carbone. Le sol peut ainsi stocker ou libérer du carbone dans

l'atmosphère, participant ainsi à la régulation de l'effet de serre. Cependant, la capacité du sol à retenir les ET dépend à la fois de ses caractéristiques (taux de matière organique, pH, porosité du sol, etc.) et des teneurs en ET déjà accumulées. Ainsi, une fois un certain seuil dépassé, le sol perd sa capacité de rétention. De plus, les changements dans l'utilisation des sols peuvent entraîner des modifications de leurs propriétés, telles qu'une réduction du taux de matière organique, provoquant ainsi le relargage des éléments précédemment retenus (Kroese et al., 2020 ; Jiménez-Ballesta et al., 2018 ; Agbenin & Henningsen, 2001).

Accueil de la biodiversité : Le sol est un écosystème à part entière, capable de fournir une diversité d'habitats et de sources alimentaires pour la biodiversité qu'il héberge. Tout d'abord, le sol présente une diversité de porosités avec différentes morphologies auxquelles les organismes peuvent s'adapter. De plus, en fonction de sa texture et de sa structure, certains organismes sont capables de réorganiser les agrégats, modifiant ainsi les habitats. En outre, le sol est la source d'éléments nutritifs pour les organismes qu'il héberge, que ces éléments se trouvent sous forme minérale ou de matière organique vivante ou morte. Le sol a la capacité de retenir ces éléments en excès et de les rendre progressivement disponibles pour les organismes. La présence d'ET dans le sol se traduit généralement par une disparition partielle ou totale de certaines espèces (Vandecasteele et al., 2004 ; Nahmani et al., 2003 ; Paoletti et al., 1998 ; Spurgeon & Hopkin, 1996a ; Rhee, 1977), ce qui peut entraîner la perte ou la réduction des fonctions écologiques.

Dans le cadre de son utilisation pour les activités humaines, le sol est généralement spécialisé dans l'accomplissement d'une de ces fonctions. Ainsi, dans le contexte des sols agricoles, la fonction de croissance des plantes a été sélectionnée et stimulée pour favoriser la culture des plantes. Pour cela, l'Homme s'est particulièrement intéressé à la dynamique de l'eau et des nutriments dans ces sols, en se concentrant sur deux éléments majeurs, à savoir l'azote et le phosphore. Ces dynamiques internes au sol s'intègrent de manière plus large dans les cycles biogéochimiques de ces éléments.

1.1.3 Impact des ET sur les cycles biogéochimiques assurés par les sols

i. Le cycle de l'azote dans le sol

L'azote du sol provient de deux grandes sources : 1/ l'azote atmosphérique (réservoir majoritaire) et 2/ l'azote issu de la matière organique (réservoir minoritaire). En effet, on estime le pool d'azote atmosphérique à 3.9×10^{21} g N, tandis que le pool d'azote dans la matière organique du premier mètre du sol est de l'ordre de 1 à 1.4×10^{17} g N, soit environ 10 000 fois moins (Batjes, 1996). À cela s'ajoutent d'autres apports minoritaires tels que l'altération des roches et les activités humaines en dehors de la fertilisation. Ces différentes formes d'azote sont inaccessibles pour les plantes. Il est ensuite converti sous une forme assimilable, soit par des bactéries diazotrophes pour l'azote atmosphérique, soit minéralisé à partir de la matière organique par des organismes décomposeurs. Cet azote assimilable (NH_4^+ et NO_3^-) est soit absorbé par les plantes, soit dénitrifié par des bactéries, le transformant alors en forme gazeuse (N_2), soit lessivé par l'eau interstitielle.

Les bactéries diazotrophes fixatrices convertissent le diazote (N_2) atmosphérique qui s'infiltré à travers l'atmosphère du sol en ammoniac (NH_4^+) en utilisant de l'énergie. Cette conversion se fait soit dans les plantes au niveau des nodosités des légumineuses en utilisant comme source d'énergie les sucres fournis par la plante, soit par des bactéries diazotrophes libres dans le sol. Cette conversion se fait via un complexe enzymatique : la nitrogénase. La fixation par des bactéries symbiotiques correspond aux deux tiers de l'azote atmosphérique fixé, le tiers restant étant effectué par les bactéries diazotrophes libres (Schlesinger & Bernhardt, 2020).

Toutefois, cet apport d'azote par fixation atmosphérique ne couvre que 10 à 15 % des besoins annuels des plantes terrestres (Schi et al., 2015). Le reste des besoins est couvert par un recyclage interne de l'azote, c'est-à-dire la minéralisation progressive de la matière organique du sol. Cette minéralisation, qui consiste en la dégradation des molécules organiques et la libération de l'azote sous forme d'ammoniac (NH_4^+), est principalement médiée par les microorganismes du sol. Le taux de minéralisation de l'azote organique dépend de plusieurs facteurs, dont la température, le taux d'oxygène dans l'atmosphère du sol, mais également de l'humidité.

L'azote organique est principalement contenu dans les protéines et les molécules dérivées des protéines. Ainsi, dans le processus de minéralisation de l'azote, on retrouve un premier groupe

d'enzymes : les protéases qui convertissent les protéines en acides aminés, suivis d'une ammonification des acides aminés qui aboutit à une production d'ammoniac. Ce processus est médié par un nombre important de micro-organismes, dont des bactéries et des champignons.

Lorsque le sol est bien aéré, comme c'est naturellement le cas pour les sols sableux, l'ammoniac est converti en nitrate (NO_3^-) sous l'impulsion des bactéries nitrosomonas, qui transforment l'ammoniac en nitrite (NO_2^-), suivi des bactéries nitrobacters, qui convertissent les nitrites en nitrates. Bien que les plantes puissent absorber des ions NH_4^+ , la majorité des plantes cultivées préfèrent absorber l'azote sous forme de nitrates. C'est particulièrement le cas des plantes nitratophiles, telles que l'ortie et la betterave à sucre, par exemple.

La présence d'ET affecte considérablement les communautés microbiennes du sol (Lu et al., 2022). Cela se traduit par une diminution des activités enzymatiques et du recyclage des nutriments dans les sols (Lu et al., 2022 ; Xing & Jin, 2018). De plus, l'absorption d'ET par le système racinaire, tel que le Zn, peut entraîner une réduction de l'absorption et de la translocation de l'azote par les plantes (Stuiver et al., 2014).

ii. Le cycle du phosphore dans le sol

Pratiquement tout le phosphore présent dans les sols provient initialement de l'altération de roches phosphatées, notamment l'apatite ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$). La quantité de phosphore dans la végétation terrestre est d'environ 5×10^{14} g de P, tandis que dans les 50 premiers centimètres du sol, la quantité de phosphore est estimée à 4.1×10^{16} g de P, dont 1.2×10^{16} g de P sous forme labile ou organique (Schlesinger & Bernhardt, 2020). L'absorption de phosphore par les plantes est estimée entre 0.7 et 1×10^{14} g de P par an (Smil, 2000). Cela représente 0.2 % du pool total de phosphore du sol et 0.5 % du pool de phosphore labile.

Dans l'environnement, l'atome de phosphore est toujours lié à des atomes d'oxygène, formant ainsi des groupements phosphates qui peuvent se présenter sous forme minérale ou être incorporés dans des molécules organiques. On distingue ainsi dans le sol un pool de phosphore minéral et un pool de phosphore organique.

Seuls les orthophosphates, c'est-à-dire les ions H_2PO_4^- et HPO_4^{2-} , présents en solution dans l'eau interstitielle du sol, sont absorbables par les plantes. Les concentrations en orthophosphates dans cette solution restent toujours très faibles en comparaison des concentrations liées ou retenues dans la phase solide du sol. En effet, les formes minérales du phosphore sont principalement liées aux argiles, aux calcaires actifs et aux hydroxydes de fer et d'aluminium, tandis que le phosphore organique est principalement associé ou inclus dans les substances humiques. Le phosphore de ces deux compartiments est libéré progressivement dans la solution du sol, créant un équilibre cinétique entre le pool de la phase solide du sol et la concentration dans l'eau interstitielle du sol. La vitesse de libération du phosphore dans la solution du sol est principalement régulée par le pH du sol, mais également par la production d'anions organiques par les plantes, qui sont libérés dans l'eau interstitielle par exsudation racinaire.

Le phosphore organique est constitué d'un ou plusieurs groupements phosphates plus ou moins liés à des atomes de carbone. Dans le sol, le phosphore organique peut représenter jusqu'à 90 % du pool de phosphore total (Richardson & Simpson, 2011), la forme majoritaire étant le phytate (Plassard & al., 2015). La dégradation de ces composés organiques se fait principalement par l'intervention des phosphatases et des phytases, d'origine biologique variée : bactéries, champignons, plantes et animaux, bien que celles d'origine bactérienne prédominent dans le sol (Plante, 2007). Ces enzymes peuvent être liées à un organisme vivant, soit sous forme interne aux cellules, soit sous forme extracellulaire, en étant associées à la paroi ou à la membrane cellulaire, ou encore libres dans l'environnement. Ces formes libres peuvent être excrétées par les organismes ou libérées lors de la lyse cellulaire.

Tout comme pour l'azote, la présence d'ET peut réduire l'activité des phosphatases (Hawkes et al., 2010 ; Juma & Tabatabai, 1977) et affecter l'absorption du phosphore par les plantes. Cela a un impact à la fois sur les plantes (Bolan et al., 2005) et sur les communautés microbiennes associées aux racines (Hawkes et al., 2010 ; Bolan et al., 2005).

1.2 IMPORTANCE DES INTERACTIONS 'BELOWGROUND-ABOVEGROUND' DANS LE FONCTIONNEMENT DES SOLS

La contamination des sols se traduit à la fois par une perte de la richesse spécifique des sols, mais également par une réduction de l'abondance des organismes qu'ils hébergent (Kardol & Wardle, 2010 ; Wardle & Peltzer, 2007). L'impact de cette perte de biodiversité sur le fonctionnement des sols est encore mal connu. Cependant, sur les sols agricoles contaminés, on observe des plantes devenues impropres à la consommation et une baisse de rendement, rendant ces sols difficilement utilisables pour une agriculture non alimentaire. Néanmoins, au cours des vingt dernières années, l'intérêt pour ces sites a augmenté, dans le but d'y installer des cultures industrielles à haute valeur ajoutée, telles que les bioplastiques, les biocomposites, les biocarburants et les produits pharmaceutiques (Kang et al., 2013).

La réhabilitation de ces sites contaminés pourrait constituer une solution potentielle pour réduire la concurrence entre les cultures alimentaires et non alimentaires sur les terres non contaminées déjà exploitées. Cela permettrait également de limiter la destruction de zones naturelles telles que les zones humides ou les forêts pour la création de nouvelles terres agricoles (Guo et al., 2015). Bien que l'utilisation de ces sites à des fins de cultures industrielles soit de plus en plus étudiée, il est essentiel de mieux comprendre leur fonctionnement écologique et de trouver des moyens d'accroître leur productivité (Schröder et al., 2017). L'installation de cultures pérennes, notamment des graminées, sur les sites contaminés a également des retombées positives sur les dynamiques du sol. Cela permet, entre autres, de restaurer la matière organique du sol, de réduire son érosion, le ruissellement des nutriments, et de restaurer des niches écologiques (Zimmermann et al., 2012 ; Dale, 2010 ; Zegada-Lizaeazu et al., 2010 ; Smeets et al., 2009).

Pourtant, l'une des solutions les plus souvent évoquées dans la littérature pour stimuler la croissance des plantes est l'amélioration de la productivité des sols par le biais de techniques de biofertilisation. Ces techniques impliquent l'inoculation d'organismes édaphiques (tels que les annélides et les champignons) pour renforcer les populations indigènes du sol et stimuler son fonctionnement. En effet, la stimulation des populations dans les sols non contaminés permet

d'augmenter la productivité des sols et de restaurer les interactions écologiques, notamment entre les communautés souterraines (faune du sol) et aériennes (plantes). Cependant, lorsque la contamination par des ET vient s'ajouter en tant que facteur défavorable, des questions se posent quant à l'efficacité de cette biofertilisation, d'autant plus que peu d'études ont été réalisées sur ce sujet dans la littérature.

1.2.1 Les vers de terre, des organismes ingénieurs du sol

Parmi les organismes du sol les plus souvent évoqués pour des approches de bio-fertilisation, on retrouve les vers de terre (*Lumbricina*). Ce groupe d'annélides oligochètes représente une grande partie de la biomasse des sols et est considéré comme des espèces ingénieurs des sols (Jouquet et al., 2006). Ils sont capables d'augmenter la croissance des plantes dans les sols non contaminés grâce à cinq grands processus : 1/ amélioration de la biodisponibilité des nutriments, 2/ amélioration de la structure du sol, 3/ régulation des pathogènes et des ravageurs, 4/ stimulation des micro-organismes symbiontes des plantes et 5/ production de molécules favorisant la croissance des plantes (Brown et al., 2004). Cela passe donc à la fois par un effet direct des vers de terre sur le sol, qui améliore le recyclage des nutriments pour les plantes et favorise une meilleure structuration du sol pour l'enracinement (van Groenigen et al., 2014), mais également par la création d'un micro-habitat plus favorable aux microorganismes du sol (Blouin et al., 2013). Parmi ces cinq processus, l'amélioration de la biodisponibilité des nutriments et une meilleure structuration du sol ont été identifiées comme les deux processus majeurs dans l'interaction vers de terre - plantes. Dans le cadre des sols non contaminés, la présence de vers de terre peut conduire à une augmentation de 23 % de la biomasse aérienne des plantes dans les agroécosystèmes (van Groenigen et al., 2013). Cependant, l'effet des vers de terre sur la plante dépend de plusieurs facteurs :

L'écotype du ver de terre : chaque espèce de ver de terre peut être positionnée sur un triangle dont chaque sommet représente un des trois écotypes extrêmes (Bouché, 1977) : les épigés, les endogés et les anéciques. Ainsi, chaque écotype a ses propres caractéristiques morphologiques et écologiques. Les épigés sont généralement des espèces relativement petites et fortement pigmentées vivant dans la litière à la surface du sol. Les vers endogés se situent

principalement dans les 30 premiers centimètres du sol et forment des galeries horizontales. Enfin, les anéciques sont les vers les plus grands. Ils creusent des galeries verticales dans le sol pouvant atteindre un mètre de profondeur. L'importance de l'écotype dans l'interaction ver de terre - plante est encore peu étudiée. Cependant, la majorité des vers de terre des sols agricoles appartiennent à l'écotype endogé, bien que ce groupe soit le moins étudié dans la littérature (Blouin et al., 2013).

La texture du sol : on sait que la texture du sol influence l'activité des vers de terre. Ainsi les sols fortement argileux ou sablonneux sont connus pour limiter leur activité (Laossi et al., 2010). Ainsi, on observe une diminution de l'effet bénéfique des vers de terre sur la croissance des plantes dans de tels sols.

Le type de plante : Les plantes peuvent être regroupées en différentes catégories en fonction de leurs caractéristiques physiologiques et écologiques. Dans une étude, van Groenigen et al. (2014) ont notamment montré un effet plus important des vers de terre sur les céréales ou les graminées fourragères que sur les légumineuses. Ces résultats sont associés à la capacité des légumineuses à fixer l'azote via une symbiose microbienne.

Toutefois, la contamination est un facteur préjudiciable important pour l'activité des vers de terre (Sivakumar, 2015 ; Kumar et al., 2008 ; Ma, 1984). Bien qu'on les retrouve naturellement dans les sols contaminés (Morgan & Morgan, 1999 ; Spurgeon & Hopkin, 1996a), ils restent sensibles à la contamination. En effet, ces derniers peuvent accumuler une grande quantité de contaminants pouvant réduire leurs activités fouisseuses (Liu et al., 2020 ; Sivakumar, 2015), ce qui pourrait conduire à une diminution ou une disparition des effets positifs des vers de terre. Ils sont également capables de modifier les propriétés physico-chimiques du sol, changeant ainsi la spéciation, la disponibilité et la biodisponibilité des polluants (Sizmur & Hodson, 2009), ce qui peut augmenter les flux de contaminants vers la plante (Sizmur, 2020). Les mécanismes derrière ces modifications de la biodisponibilité des ET sont encore peu connus. Toutefois, de récentes études tendent à montrer que les vers de terre continuent à avoir un effet positif sur la croissance des plantes à court terme lorsque des vers de terre sont inoculés dans un sol contaminé (Dandan et al., 2007). Pour que l'interaction entre les vers de terre et les plantes puisse se maintenir à long

terme, il faut que les vers de terre puissent se développer, se reproduire et maintenir un travail du sol suffisant. Ainsi, la revégétalisation d'un sol est souvent associée au retour de la faune édaphique (Watson et al., 2022 ; Hobbs, 1994), bien que la relation entre les plantes et les vers de terre reste peu étudiée malgré des suppositions.

1.2.2 Les enchytréides, des organismes alliés ou compétiteurs des vers de terre ?

L'arrivée de nouvelles espèces de vers de terre dans un sol via une inoculation peut affecter la biodiversité indigène. Plusieurs études dans des sols non contaminés ont montré que l'arrivée de vers de terre dans un nouveau sol peut être responsable d'une baisse de l'abondance de certaines espèces, voire de leur disparition (Ferlian et al., 2018). C'est notamment le cas pour les enchytréides (*Enchytraeidae*).

Ces annélides peu pigmentés appartiennent à la mésofaune. Tout comme les vers de terre, les enchytréides ont une forte activité fousseuse, également géophage (Pelosi & Römbke, 2016). Ils sont essentiellement microbivores contrairement aux vers de terre majoritairement saprovores (Pelosi & Römbke, 2016 ; Briones & Ineson, 2002). Plus tolérants aux contraintes environnementales fortes (acidité, salinité, contamination), ils sont parfois retrouvés dans des sols où les vers de terre sont absents (Bart et al., 2016).

Ces organismes ont un rôle fonctionnel proche des vers de terre. Ils participent notamment à la minéralisation de la matière organique et l'aération du sol mais à une échelle spatiale plus petite, localisée généralement dans les dix premiers cm du sol (van Vliet et al., 2004 ; van Vliet et al., 1993). Cela pourrait faire de ces organismes de bons candidats pour une approche de biofertilisation. Toutefois le rôle dans une augmentation de la croissance des plantes n'a pas encore été démontré. De plus, ces annélides sont moins compétiteurs que les vers de terre. Ainsi, en cas de présence des deux espèces, on observe en général une diminution ou une disparition des populations d'enchytréides. Or la co-existence des deux groupes dans un même sol pourrait avoir un fort intérêt pour une approche de biofertilisation en assurant une complémentarité fonctionnelle.

1.3 UNE APPROCHE D'ECOTOXICOLOGIE FONCTIONNELLE POUR QUANTIFIER LES DYSFONCTIONNEMENTS DES SOLS

L'écotoxicologie classique se traduit généralement par une évaluation structurelle de l'écosystème. Ces approches se basent principalement sur les teneurs totales en contaminants dans un (éco)système donné et l'abondance des organismes en réponse à cette concentration (Nahmani et al., 2003 ; Spurgeon & Hopkin, 1996a). Toutefois, cette approche ne permet pas de quantifier le fonctionnement d'un écosystème, notamment les flux d'énergie et de matière, les taux de renouvellement d'un pool d'éléments, ou la régulation biologique (Cairns et al., 1992).

En effet, dans certains systèmes, les communautés biologiques sont peu affectées par la présence de contaminants, mais montrent des perturbations importantes dans la réalisation de leurs fonctions écologiques. En revanche, dans d'autres systèmes, on peut observer une forte perturbation structurelle avec une faible perturbation fonctionnelle (Cairns & Pratt, 1986). Ces différences s'expliquent par l'apparition de mécanismes sublétaux dans le premier cas, et par l'existence d'une redondance écologique importante dans le second (Kardol & Wardle, 2010).

Ainsi, l'étude d'un système via une approche d'écotoxicologie fonctionnelle permet de mieux appréhender la qualité d'un écosystème dans sa globalité, en évaluant ses différentes fonctions. De plus, cela permet de prédire son évolution dans le temps (Cairns et al., 1992). Comprendre les dysfonctionnements fonctionnels d'un écosystème serait notamment utile pour développer des indicateurs de qualité, de surveillance et de restauration de l'environnement.

Dans une approche classique d'écotoxicologie, la teneur totale en ET dans le sol est souvent utilisée comme indicateur de pollution (Sheppard et al., 1992). Cependant, plusieurs études ont montré qu'il n'y a pas toujours de lien entre la teneur totale en ET dans le sol et les effets toxiques sur les organismes (Lebrun et al., 2011 ; Mourier et al., 2011 ; Pernet-coudrier et al., 2008 ; Lanno et al., 2004). Il est donc essentiel de tenir compte de trois composantes de la biodisponibilité d'un élément pour comprendre le lien entre sa présence dans le sol et les effets toxiques. Ces trois composantes sont : 1/ La disponibilité environnementale, 2/ la biodisponibilité environnementale, et 3/ la biodisponibilité toxicologique.

1.3.1 La disponibilité environnementale

La disponibilité environnementale représente les différents pools de métaux potentiellement absorbables pour les organismes (Harmsen, 2007 ; Lanno et al., 2004). Ces pools peuvent être estimés à l'aide d'extractions chimiques simples ou séquentielles, qui déterminent différentes fractions : 1/ La fraction soluble (extractible à l'eau), 2/ La fraction mobile (échangeable avec des sels tels que CaCl_2 ou NaNO_3), 3/ La fraction mobilisable (échangeable avec des agents chélateurs comme l'EDTA), 4/ La fraction résiduelle totale (obtenue par la digestion de la matrice du sol avec un acide fort tel que HF ou HNO_3). Des extractions physiques permettent également de localiser la contamination dans le sol, en fonction de la minéralogie ou de la granulométrie, par exemple.

1.3.2 La biodisponibilité environnementale

La biodisponibilité environnementale se réfère à la capacité d'un élément à traverser la membrane plasmique (Harmsen, 2007). Elle est souvent mesurée par la concentration interne dans les organismes, mais cette mesure est en réalité le résultat de deux processus antagonistes. Le premier processus concerne l'absorption des éléments par l'organisme, tandis que le second est la dépuration des organismes qui permet l'élimination des éléments absorbés. Il est important de noter que cette biodisponibilité environnementale est spécifique à chaque espèce (Dai et al., 2004 ; Morgan & Morgan, 1999).

1.3.3 La biodisponibilité toxicologique

Dans le cadre des éléments traces essentiels, nous pouvons observer une plage de viabilité délimitée par une valeur interne minimale et une valeur interne maximale (Hell & Mendel, 2011). En deçà de cette valeur minimale, l'organisme est en carence, ce qui peut entraîner un ralentissement de la croissance, de la reproduction, voire la mortalité (Hell & Mendel, 2011). Au-delà de la valeur interne maximale, nous entrons en excès, ce qui peut d'abord induire une toxicité sub létale, puis une toxicité aiguë, entraînant la mort de l'organisme. En général, des mécanismes de transport facilité de ces éléments à travers la membrane plasmique et des mécanismes de régulation permettant de mieux gérer les carences ou les excès de ces éléments sont observés.

Chapitre 1 : État de l'art

Dans le cas des éléments traces non essentiels, nous observons un schéma de réponse différent. Il y existe une phase de tolérance en dessous d'une valeur seuil appelée NOEC, pour *No Observable Effect Concentration*, c'est-à-dire la concentration maximale pour laquelle nous n'observons pas d'effet toxique sur l'organisme. Au-delà de cette valeur, des effets létaux ou sublétaux peuvent survenir (Pelletier & Campbell, 2008).

À l'échelle d'un écosystème, cela peut se traduire par une réduction de l'activité des organismes ou une perte d'abondance des organismes, pouvant aller jusqu'à la disparition locale d'une espèce (Nahmani et al., 2003 ; Spurgeon & Hopkin, 1996a).

2. CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODE

2.1 DESCRIPTION DES SOLS UTILISES

2.1.1 Substrat horticole témoin pour la croissance des plantes - tourbe - non contaminé

Pour vérifier la bonne germination et croissance des plantes dans des conditions optimales, nous avons utilisé un substrat horticole dans l'expérience A comme substrat témoin non-contaminé. Il a été acheté en jardinerie (Truffaut, France) et correspond au substrat de multiplication Floradur B de la marque Flora Gard. Il s'agit d'un mélange de tourbe blonde et tourbe noire dont le pH est de 6.1 et le taux de matière organique est de 85 %. Les teneurs en N, P, et K sont respectivement de 180 mg.L⁻¹, 100 mg.L⁻¹, et 200 mg.L⁻¹. Les teneurs en Cu, Zn et Cd sont respectivement de 14.6 mg.kg⁻¹, 44.8 mg.kg⁻¹ et 0.2 mg.kg⁻¹.

2.1.2 Sol d'élevage des vers de terre - Closeaux (CLX) - non contaminé

Ce sol est utilisé comme sol d'élevage pour les vers de terre utilisés dans les expériences A, B, C, D et E. Les caractéristiques du sol sont présentées dans le tableau 2.1. Ce sol CLX a été collecté sur l'horizon de surface de 0 à 20 cm sur le site expérimental des Closeaux (48°48'20.2"N 2°05'08.5"E, Versailles, France) tous les 6 mois entre 2019 et 2022. Lors de chaque prélèvement, 8 carrés de 50 x 50 cm ont été échantillonnés pour collecter 400 L de sol.

Le sol a été séché à l'air libre et broyé à 2 mm avant d'être homogénéisé. Les caractéristiques ont été déterminées par des protocoles standardisés. Ainsi, la texture du sol a été déterminée à partir de la norme AFNOR X31 107. Le pH et la conductivité du sol ont été mesurés en suivant les normes ISO 10390:1994 (F) et AFNOR X31-113. La capacité d'échange cationique a été mesurée grâce à la norme ISO 23470. Les concentrations totales en Cd, Cu et Zn ont été mesurées à partir des normes NF X 31-147 et ISO 14869-1, tandis que les concentrations extractibles à l'EDTA l'ont été par les normes internes LAS-SOL-1704 et LAS-SOL-1753. L'azote total, les carbonates de calcium totaux, ainsi que le carbone organique total ont été déterminés par combustion sèche suivant les normes ISO 13878, ISO 10693 et ISO 14235. Le phosphore a été déterminé par la méthode Olsen (NF ISO 11263).

Chapitre 2 : Matériel et méthode

De façon générale, le sol CLX est un sol limono-argileux avec un pH de 6.2 et une conductivité de 135.8 μS . Les concentrations en Cd, Cu et Zn sont de respectivement 0.2 mg.kg^{-1} , 18.0 mg.kg^{-1} et 52.0 mg.kg^{-1} .

Tableau 2.1: Caractéristiques principales des sols CLX et CHV.

	Caractéristiques	CLX	CHV
Granulométrie	Sable (%)	20	75
	Limon (%)	62	17
	Argile (%)	18	8
Propriétés physicochimiques	pH	6.2	7.8
	Conductivité (μS)	135.8	83.1
	Azote total (g.kg^{-1})	2.0	2.3
	Carbonates de calcium totaux (g.kg^{-1})	< 1	15.0
	Carbone organique total (g.kg^{-1})	22.4	34.0
	C/N	11.5	15.0
	Phosphore total (g.kg^{-1})	0.1	0.1
	Capacité d'échange cationique ($\text{cmol}. \text{kg}^{-1}$)	13.8	14.1
Concentrations totales des contaminants	Cd (mg.kg^{-1})	0.2	6.8
	Cu (mg.kg^{-1})	18.0	139.1
	Zn (mg.kg^{-1})	52.0	587.5
Concentrations extractibles à l'EDTA des contaminants	Cd (mg.kg^{-1})	0.1	5.9
	Cu (mg.kg^{-1})	8.2	101.6
	Zn (mg.kg^{-1})	4.6	383.7

2.1.3 Sol experimental - Chanteloup-les-Vignes (CHV) – contaminé

Dans ce travail nous avons utilisé non pas un sol contaminé au laboratoire, mais un sol contaminé au champ sur le long terme, de façon diffuse et chronique. Ce sol contaminé in situ a été prélevé sur un site localisé dans la banlieue nord-ouest parisienne. Ce site, cultivé en maraichage, a été irrigué pendant une centaine d'années par les eaux usées brutes de la ville de Paris avant la construction des stations d'épuration et afin d'utiliser le "pouvoir épurateur" du sol au lieu de rejets directs dans la Seine. L'épandage des eaux usées pour irriguer les sols agricoles a progressivement vu le jour à partir du XVIe siècle dans divers pays d'Europe avant de se répandre dans les grandes villes au XIXe siècle. Paris a été pionnière en la matière, atteignant son apogée

en 1872 avec plus de 5 000 hectares de terres irriguées répartis sur quatre sites majeurs : Gennevilliers (900 ha), Achères (1 400 ha), Pierrelaye (2 010 ha) et Triel-sur-Seine (950 ha) (Jaramillo & Restrepo, 2017). L'irrigation de ces sols avec de l'eau de mauvaise qualité a eu pour conséquence une forte augmentation de la teneur en matière organique du sol, mais également une augmentation significative des concentrations en ET, atteignant parfois jusqu'à cent fois les valeurs du FPGN (Lamy et al., 2006). Cette contamination progressive des sols a finalement conduit à l'interdiction de toute culture alimentaire sur ces sites pour des raisons sanitaires.

Les échantillons de sol ont été prélevés dans la plaine de Chanteloup-les-Vignes sur une parcelle agricole (48°57'37.4"N 2°02'18.3"E, Île-de-France, France). Lors de chaque prélèvement, 12 carrés de 50 x 50 cm ont été prélevés pour collecter l'horizon 0 - 20 cm. Les échantillons ont été collectés tous les 6 mois entre novembre 2018 et mai 2022 pour les expériences A, B, C, D et E. Les caractéristiques détaillées de ce sol sont données dans le tableau 2.1. Tout comme le sol CLX, le sol a été séché à l'air libre et broyé à 2 mm avant d'être homogénéisé. Les caractéristiques principales du sol ont également été mesurées par le Laboratoire d'Analyses des Sols (Arras, France) en suivant les protocoles standardisés énoncés dans la partie 2.1.2.

Le sol CHV est un sol sableux (75 % de sable) avec un pH de 7.8 et une teneur en carbone organique totale de 34.0 g.kg⁻¹. Les teneurs totales en azote et phosphore sont respectivement de 2.3 g.kg⁻¹ et 0.1 g.kg⁻¹, ainsi qu'une capacité d'échange cationique de 14.1 cmol⁺.kg⁻¹. Les teneurs totales en Cd, Zn et Cu sont respectivement de 6.8 mg.kg⁻¹, 587.5 mg.kg⁻¹ et 139.1 mg.kg⁻¹, les teneurs extractibles à l'EDTA sont de 5.9 mg.kg⁻¹ (Cd), 383.7 mg.kg⁻¹ (Zn) et de 101.6 mg.kg⁻¹ (Cu).

2.2 DESCRIPTION DU MATERIEL BIOLOGIQUE

2.2.1 *Lolium perenne* (*L. perenne*) – plante

Lolium perenne, (Ray-grass anglais) dénommée par la suite "L", est une plante de la famille des *Poaceae*, originaire d'Europe, où elle est largement cultivée comme plante fourragère, mais elle est également présente dans les prairies naturelles. Sa croissance rapide et sa petite taille en font un choix idéal pour les expériences *ex-situ*.

Chapitre 2 : Matériel et méthode

Les graines de *Lolium perenne* proviennent de deux lots (Engrais verts Ray-grass anglais, 500 g, Vilmorin) achetés en jardinerie (Truffaut, France).

2.2.2 *Aporrectodea caliginosa* (*A. caliginosa*) - ver de terre

Aporrectodea caliginosa dénommé par la suite "Ea" est une espèce de ver de terre faisant partie du groupe des endogés, couramment retrouvée dans les sols cultivés. Cette espèce est utilisée pour des tests en écotoxicologie (Bart et al., 2018) et est élevée dans notre laboratoire de l'INRAE (Palaiseau, France). Le protocole d'élevage est décrit par Bart et al. (2018).

Avant les expérimentations A, B, D et E, les vers de terre ont eu leur tube digestif vidé en les laissant à jeun sur un papier filtre humide pendant 48 heures nettoyé régulièrement.

2.2.3 *Enchytraeus albidus* (*E. albidus*) – enchytréide

Enchytraeus albidus dénommé par la suite "En" est une espèce d'enchytréide que l'on retrouve communément dans les sols. Ces organismes sont utilisés lors de différents tests écotoxicologiques (Bart et al., 2017 ; Römbke & Moser, 2002) et notamment comme organisme modèle pour deux tests écotoxicologiques normalisés : un test de bioaccumulation et un test de reproduction (OCDE 220, 2000 ; OCDE 317, 2000).

Les enchytréides ont été achetées via le site internet bachflohkrebse.de, conditionnés en sachets de 90 mL (environ 100 enchytréides par sachet).

2.3 DESIGN EXPERIMENTAL

2.3.1 Expérience A : Mise en évidence des interactions ver de terre - plantes en sol contaminé et conditions sublétales

i. Schéma expérimental

L'expérimentation a été réalisée dans une serre chauffée la nuit à 17 °C et sous la température naturelle pendant le jour (supérieure à 17 °C), avec un éclairage de 12 heures. Des pots de 2 litres ont été remplis soit avec le sol contaminé (CHV) soit avec le substrat tourbe non contaminé (NC). Ensuite, les pots ont été réhydratés et maintenus à 70 % de leur capacité de rétention en eau pendant les 2 mois de l'expérimentation.

Sept traitements, avec six réplicats par traitement, ont été mis en place, comprenant trois traitements de référence non contaminés : 1/ des plantes cultivées sur le substrat non contaminé (L-NC) ; 2/ des vers de terre incubés dans un sol non contaminé (Ea-NC) ; et 3/ des vers de terre et des plantes incubés ensemble sur un sol non contaminé (EaL-NC). De plus, un traitement de référence contaminé a été établi : 4/ le sol contaminé en l'absence de plantes et de vers de terre (S). Enfin, trois conditions expérimentales distinctes ont été mises en place : 5/ des plantes cultivées sur le sol contaminé (L) ; 6/ des vers de terre incubés dans un sol contaminé (Ea) ; et 7/ des vers de terre et des plantes incubés ensemble sur un sol contaminé (EaL). Chaque traitement comprend six réplicats.

Les pots ont été remplis de 2.2 kg de sol CHV sec pour les conditions S, L, Ea, EaL, et de 800 g de tourbe sèche pour les conditions L-NC, Ea-NC, EaL-NC. Dans les conditions Ea-NC, EaL-NC, Ea, et EaL, 10 vers de terre adultes avec le clitellum totalement développé ont été introduits. De plus, 30 graines de *L. perenne* par pot dans les conditions L-NC, EaL-NC, L, et EaL ont été plantées. Au début de l'expérience, deux Rhizon samplers (MOM 10 cm, Eijkelkamp Agrisearch Equipment, Pays-Bas) ont été insérés dans le sol des conditions contaminées (S, L, Ea, EaL) avec un angle de 45° pour recueillir la solution du sol.

Chaque jour, les pots sont arrosés avec de l'eau du robinet pour maintenir une humidité à 70 % de la capacité de rétention en eau du sol. Le taux de germination des graines est calculé quotidiennement. Chaque semaine, la longueur des parties aériennes a été mesurée. La teneur en chlorophylle dans les feuilles, mesurée via un chlorophyllo-mètre (SPAD-502 de MINOLTA), a été calculée toutes les deux semaines. Pour cela, la mesure a été effectuée en triplicat sur la feuille et la moyenne des trois mesures a été notée. L'eau interstitielle du sol de chaque pot a été collectée au début et à la fin de l'expérimentation, deux heures après l'arrosage. Des échantillons de sol ont été prélevés dans chaque pot (environ 30 g) au début et à la fin de l'expérimentation en utilisant une tarière de 1 cm de diamètre sur toute la profondeur du pot pour les conditions S, L, Ea, et EaL.

À la fin de l'expérimentation, le sol des pots L et EaL était totalement colonisé par les racines des plantes. Ainsi, l'eau interstitielle du sol peut être considérée comme la solution du sol

Chapitre 2 : Matériel et méthode

rhizosphérique. Quatre plantes par pot ont été collectées pour l'analyse des exsudats racinaires. Pour les autres plantes, les parties aériennes et souterraines ont été séparées et lavées pendant 10 secondes à l'eau du robinet, puis pendant 10 secondes à l'eau déminéralisée. Les échantillons lavés ont été séchés dans une étuve à 70 °C pendant deux jours. Parallèlement, les vers de terre ont été collectés manuellement, le taux de survie a été calculé, puis ils ont été placés sur un papier filtre humide pendant 48 h, pesés, et congelés à -80 °C en vue d'analyses ultérieures.

ii. Analyses des plantes

Le poids des parties aériennes et souterraines sèches a été mesuré avant leur broyage à 500 µm et échantillonnage. Des aliquots de 0.5 g ont été pesés (3 par échantillon) avant d'être digérés dans une solution d'acide HNO₃ (acide nitrique 68 %, Normapur) à l'aide d'un système à micro-ondes (CEM, MarsXpress, Matthews, Caroline du Nord, États-Unis). Les solutions digérées ont ensuite été diluées avec 50 mL d'eau ultrapure (eau MilliQ, Millipore, 18 MΩ). Les concentrations en Cu, Zn et Cd dans les extraits ont été mesurées à l'aide d'un spectromètre à absorption atomique (SpectrAA 220 FS, Varian) en utilisant des méthodes standardisées et des procédures de contrôle qualité.

iii. Analyses des vers de terre

Les vers de terre congelés ont été lyophilisés, puis leur poids sec a été noté. Chaque ver a été digéré individuellement dans une solution d'HNO₃ concentrée à l'aide d'un système à micro-ondes. Les digestats ont ensuite été dilués avec 20 mL d'eau ultrapure. Les concentrations en Cu, Zn et Cd des extraits ont été déterminées à l'aide d'un spectromètre à absorption atomique en utilisant des méthodes standardisées et des procédures de contrôle qualité.

iv. Analyses des échantillons de sol

Les échantillons ont été séchés à l'air puis tamisés à 2 mm avant d'être homogénéisés par carottage. La conductivité du sol a été mesurée conformément à la norme AFNOR X31-113. En bref, 5 g de sol sec ont été placés dans un tube en plastique avec 25 mL d'eau déionisée. La solution du sol a été agitée à 350 rpm pendant une heure, puis centrifugée à 75 600 g pendant 10 minutes. La conductivité du surnageant a été mesurée à l'aide d'un conductimètre (CD 810, TACUSSEL). Le pH du sol a été mesuré selon la norme ISO 10390:1994 (F). 5 mL de sol sec ont été

placés dans 25 mL d'eau déionisée et agités pendant 5 min. Le pH de la solution a été mesuré deux heures après agitation à l'aide d'un pH-mètre (sensION+ et MM340).

v. *Analyses des échantillons d'eau interstitielle*

Le pH de l'eau interstitielle a été mesuré directement avec un pH-mètre (sensION+ et MM 340), de même que la conductivité à l'aide d'un conductimètre (CD 810, TACUSSEL).

vi. *Analyse des exsudats racinaires*

Le système racinaire des quatre plantes est rincé avec de l'eau distillée. Les plantes sont séparées en deux lots, avec deux plantes par lot, et leur système racinaire est plongé dans 40 mL de $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.01 M) (Aulakh et al., 2001) pendant deux heures. Le tube contenant la solution et le système racinaire est protégé de la lumière avec du papier d'aluminium afin d'éviter la dégradation des molécules. Les plantes sont replacées dans la serre pendant l'extraction pour maintenir les mêmes conditions que celles de l'expérimentation. Ensuite, le poids des parties aériennes et racinaires est mesuré, et la solution est congelée à $-20\text{ }^\circ\text{C}$. Un aliquot de la solution est ensuite lyophilisé et resuspendu dans 2 mL d'eau ultrapure, puis filtré à $0.45\text{ }\mu\text{M}$ à l'aide d'une seringue filtrante (Phenex-RC $0.45\text{ }\mu\text{m}$ - Phenomenex).

Détermination du carbone organique total et de l'azote total dans les exsudats racinaires :

Le carbone organique total et l'azote total des exsudats racinaires ont été déterminés à l'aide d'un analyseur Shimadzu TOC-L CPN équipé d'une unité d'azote total TNM-L et d'un passeur automatique d'échantillons ASI-L. L'appareil utilise une méthode d'oxydation catalytique par combustion à $680\text{ }^\circ\text{C}$ pour déterminer le carbone organique total et l'azote total. 8 mL de solution d'exsudat filtrée ont été utilisés pour l'analyse. L'étalonnage a été effectué en utilisant du phtalate d'hydrogène de potassium (KHP - $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$; Sigma Aldrich, Italie) comme étalon pour le carbone organique total et du nitrate de potassium (KNO_3 ; Sigma Aldrich, Italie) comme étalon pour l'azote total.

Détermination des phénols totaux dans les exsudats racinaires :

La teneur en phénols totaux des exsudats racinaires a été déterminée selon la méthode Folin-Ciocalteu (Atanassova et al., 2011). En résumé, $200\text{ }\mu\text{L}$ d'échantillon ou d'une solution standard

Chapitre 2 : Matériel et méthode

d'acide gallique ont été mélangés avec 1.4 mL d'eau désionisée et 100 μL de réactif phénolique de Folin-Ciocalteu (2 mol.L^{-1} ; Sigma Aldrich; Italie). Un blanc de réactif utilisant la matrice sans échantillon a également été préparé. Les échantillons et les étalons ont été mesurés à l'aide d'un spectrophotomètre à 765 nm et exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme de racine (poids frais).

Détermination des flavonoïdes totaux dans les exsudats racinaires :

La teneur totale en flavonoïdes a été déterminée selon une méthode de pharmacopée. L'hydrate de rutine (pureté $\geq 94\%$, Sigma Aldrich; Italie) a été utilisé comme composé de référence. Brièvement, 160 μL d'échantillon ou d'une solution standard de rutine ont été mélangés à 160 μL d' AlCl_3 (20 g.L^{-1} dans l'éthanol; Sigma Aldrich; Italie) et 3.68 mL d'éthanol (Sigma Aldrich; Italie). Un blanc a également été préparé. Les échantillons et les étalons ont été mesurés à l'aide d'un spectrophotomètre à 415 nm après 40 min à 20 °C. Les résultats ont été exprimés en mg d'équivalent rutine par gramme de racine (poids frais) (Miliauskas et al., 2004).

Détermination des composés chélateurs dans les exsudats racinaires :

La teneur en composés chélateurs des exsudats racinaires a été déterminée par colorimétrie en utilisant une procédure modifiée de la méthode spectrophotométrique au Chrome Azurol S (Shenker et al., 1995). L'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) a été utilisé comme composé de référence. En résumé, 200 μL d'échantillon ou de solution standard d'EDTA ont été mélangés avec 800 μL d'eau et 1 mL de solution CuCAS (Sigma Aldrich, Italie). Un blanc a également été préparé. Les échantillons et les étalons ont été mesurés à l'aide d'un spectrophotomètre à 585 nm.

Détermination des carboxylates dans les exsudats racinaires par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) :

Les carboxylates ont été séparés sur une colonne échangeuse de cations (colonne Aminex 87-H, $300 \times 7,8 \text{ mmol.L}^{-1}$, 9 μm , Bio-Rad) en utilisant une élution isocratique avec $10 \text{ mmol.L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ comme solution porteuse à un débit de 0.6 mL.min^{-1} . Les carboxylates ont été détectés à 210 nm à l'aide d'un détecteur à matrice de photodiode Waters 2998 (Waters Spa, Italie). Les carboxylates standard ont été préparés sous forme de solutions mères individuelles, en utilisant des composés

de qualité réactive Sigma (Italie), puis combinés pour obtenir des standards de référence dilués. La comparaison des temps de rétention des composés inconnus avec ceux des composés purs a permis d'identifier les carboxylates.

vii. Analyse statistique

Toutes les données ont été analysées avec le logiciel R® ([version 3.6.1, The R Foundation for Statistical Computing Platform, 2019](#)). Les différences ont été considérées comme significatives si la p-value était inférieure à 0.05. Lorsque l'homogénéité des variances ([test de Bartlett, Snedecor et Cochran, 1989](#)) et la normalité des résidus (test de Shapiro) étaient respectées, une ANOVA et un test post-hoc de Tukey (Honestly Significant Difference) ont été effectués pour analyser les différences entre les traitements. Lorsque les conditions de normalité et d'homoscédasticité n'étaient pas respectées, le test non paramétrique de Kruskal-Wallis a été utilisé. Le test de corrélation de Pearson a été réalisé pour déterminer la relation entre les différents paramètres.

2.3.2 Expérience B : Étude des flux d'éléments dans les interactions vers – plantes

i. Design expérimental

L'expérience s'est déroulée dans une salle d'incubation à température naturelle (min : 17 °C, moyenne : 19 °C, max : 22 °C) avec un éclairage artificiel de 12 heures, utilisant des rampes LED agricoles (barre horticole SpectraWILD S60 LED, 60W, Samsung & MeanWell). Des pots (Green Basic, diamètre : 17 cm, volume : 2 L, Elho©) ont été remplis avec 1.8 L de sol sec CHV (2.2 ± 0.3 kg). Pour étudier les interactions entre le sol, les plantes et les annélides (vers de terre et enchytréides) en évitant les facteurs confondants tels que la sécheresse, les cosmes ont été maintenus dans des conditions optimales avec un taux d'humidité équivalent à 70 % de la capacité de rétention en eau, puis incubés pendant 2 mois.

Huit traitements ont été appliqués, avec cinq réplicats par condition : 1/ Sol contaminé sans inoculation d'annélides ni présence de plantes (S), 2/ Sol contaminé inoculé avec des vers de terre (Ea), 3/ Sol contaminé inoculé avec des enchytréides (En), 4/ Sol contaminé avec la présence de plantes (L), 5/ Sol contaminé inoculé avec des vers de terre et la présence de plantes (EaL), 6/ Sol contaminé inoculé avec des enchytréides et la présence de plantes (EnL), 7/ Sol contaminé inoculé

Chapitre 2 : Matériel et méthode

avec des vers de terre et des enchytréides (EaEn), et 8/ Sol contaminé inoculé avec des vers de terre et des enchytréides, et la présence de plantes (EaEnL).

Une semaine avant le début de l'expérimentation, les pots ont été progressivement arrosés avec de l'eau du robinet pour atteindre une humidité du sol correspondant à 70 % de la capacité de rétention en eau. Trois jours avant le début de l'expérimentation, 300 graines de *L. perenne* (12 graines par pot) ont été placées pour germer sur un papier filtre humide, exposées à une faible luminosité. Deux jours avant le début de l'expérimentation, 220 vers de terre (10 vers de terre par pot) ont été maintenus sur un papier filtre humide pendant 48 heures pour vider leur contenu intestinal. Un jour avant le début de l'expérimentation, deux échantillonneurs Rhizon (MOM 10 cm, Eijkelkamp Agrisearch Equipment, Pays-Bas) ont été insérés dans le sol à un angle de 45 ° pour collecter l'eau interstitielle du sol.

Pour les conditions où les deux types d'annélides étaient présents, un rapport de 1 ver de terre pour 60 enchytréides a été choisi en se basant sur des expériences antérieures. Ces expériences ont montré que l'activité de 60 enchytréides adultes avait un effet équivalent à l'activité d'un ver de terre mature sur le pH et la conductivité dans 100 g de sol humidifié à 80 % de la capacité de rétention pendant deux mois à 20 °C. De plus, le poids de cinq lots de 30 enchytréides a été utilisé pour établir une relation entre le nombre d'individus et le poids, afin d'inoculer un nombre estimé de 600 enchytréides dans chaque pot.

L'inoculation des annélides et la transplantation des plantules ont été effectuées le même jour, correspondant au début de l'expérimentation (T_0). Les poids individuels et la biomasse totale par pot ont été mesurés avant l'inoculation des annélides, et 12 plantules ont été plantées dans chaque pot. Deux heures après l'arrosage des pots et le début de l'expérimentation, l'eau interstitielle a été collectée. Vingt grammes de sol frais ont été prélevés en trois points de chaque pot à l'aide d'une tarière de 2 cm de diamètre. Vingt grammes ont été congelés à -20 °C, tandis que le reste du sol a été séché à l'air et tamisé à 2 mm.

À la fin de l'expérimentation, l'eau interstitielle du sol a été collectée deux heures après l'arrosage des pots, avant le démontage des cosmes. Cent cinquante grammes de sol frais ont été collectés en trois points de chaque pot à l'aide d'une tarière de 2 cm de diamètre. Vingt grammes

ont été congelés à -20 °C, 25 g de sol frais ont été conservés à 4°C pour le comptage des enchytréides, et le reste du sol a été séché à l'air et tamisé à 2 mm. Les plantes ont été délicatement retirées du sol, rincées pendant 10 secondes à l'eau du robinet, puis pendant 10 secondes à l'eau déionisée. Les parties aériennes et souterraines ont été séparées et séchées pendant 48 heures à 70 °C dans une étuve. Les vers de terre ont été extraits manuellement du sol, puis mis à jeûner pendant 48 heures sur un papier filtre humide avant d'être pesés et congelés à -80 °C. Enfin, le maximum d'enchytréides a été extrait manuellement, rincé à l'eau du robinet, puis à l'eau déionisée, et directement congelé à -80 °C.

ii. Analyse des plantes

Le poids sec des plantes a été mesuré après le séchage des parties aériennes et racinaires. Les deux parties sèches ont ensuite été broyées à 500 µm, et 0.5 g ont été prélevés pour chaque échantillon avant d'être digérées avec une solution d'acide nitrique concentré (acide nitrique à 68 %, Normapur) dans un système à micro-ondes (CEM, MarsXpress, Matthews, NC, USA). Les solutions digérées ont ensuite été diluées avec 50 mL d'eau ultrapure (eau MilliQ, Millipore, 18 MΩ). Les concentrations en Cu, Zn et Cd dans les extraits ont été mesurées par ICP (iCAP-7400, Thermo Fisher Scientific) en utilisant des méthodes standardisées et des procédures de contrôle de qualité.

La teneur en azote dans les plantes a été déterminée par la méthode Dumas. Un échantillon de plantes séchées a été broyé une seconde fois en utilisant un vibro-broyeur (MM 301, Retsch). Cinq milligrammes de poudre de plante ont été encapsulés dans une capsule d'étain. La teneur en azote a ensuite été déterminée par analyseur CHNS (vario MICRO-cube, Elementar®).

iii. Analyse des vers de terre

Les vers de terre congelés ont été lyophilisés, puis leur poids sec a été enregistré. Chaque ver a été digéré individuellement dans une solution d'acide nitrique concentré dans un système à micro-ondes. Les digestats ont ensuite été dilués avec 20 mL d'eau ultrapure. Les concentrations en Cu, Zn et Cd des extraits ont été ensuite déterminées par ICP en utilisant des méthodes standardisées et des procédures de contrôle de qualité.

Chapitre 2 : Matériel et méthode

iv. Analyse des enchytréides

Pour estimer le nombre d'enchytréides dans les cosmes à la fin de l'expérimentation, un comptage a été effectué dans 25 g de sol frais. Le sol a été étalé dans une boîte de Pétri (Ø 140 mm), puis couvert d'eau. Cinq millilitres d'éthanol à 96° avec 300 µL de rose de Bengale ont été ajoutés pour colorer les tissus des enchytréides. Après 12 heures, le nombre d'enchytréides a été compté à l'aide d'une loupe binoculaire. Le nombre total d'enchytréides dans le cosme a été ensuite extrapolé pour chaque pot en supposant une distribution horizontale uniforme dans le cosme (absence de zones d'accumulation préférentielle) et que l'homogénéisation du sol a lissé toute potentielle distribution verticale des organismes.

Les enchytréides congelés ont été digérés dans une solution d'acide nitrique, et les concentrations en Cu, Zn et Cd des extraits ont été mesurées par ICP en utilisant des méthodes standardisées et des procédures de contrôle de qualité.

v. Analyse des échantillons de sols

Mesure de la biodisponibilité des nutriments et contaminants avec les échantillonneurs de diffusion en couches minces (DGT)

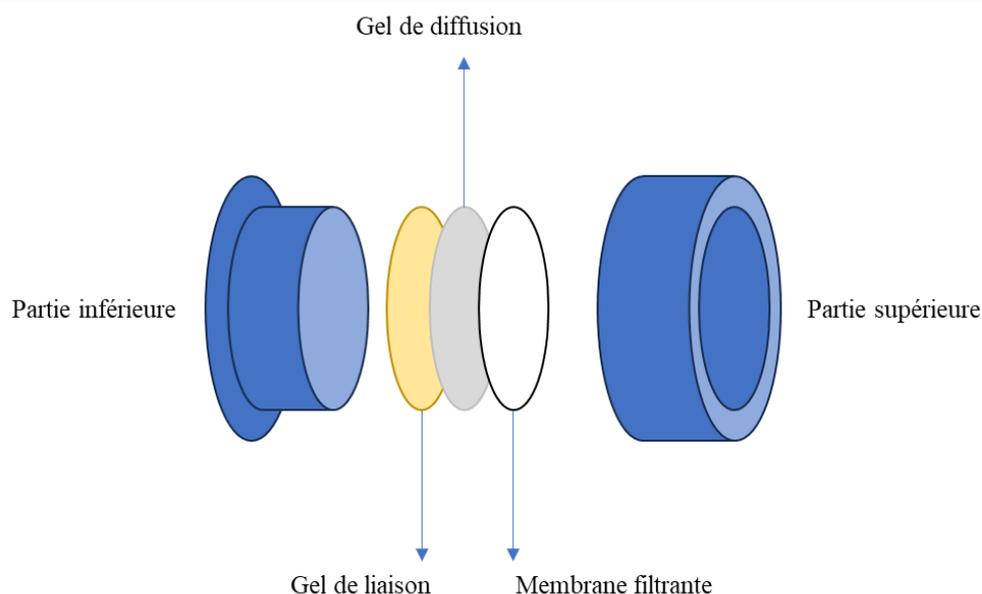


Figure 2.1: Schéma d'un échantillonneur de diffusion en couches minces (DGT)

Les échantillons de sol ont été décongelés progressivement à 4 °C pendant 48 heures avant le début de l'expérience DGT. Un échantillonneur DGT est composé de deux cylindres en plastique

assemblés, renfermant deux types de gels (un gel de diffusion et un gel de fixation), tous deux protégés par une membrane filtrante (voir Figure 2.1). Le gel de fixation occupe la partie centrale du dispositif. Pour la fixation du phosphore (P-DGT), un gel de fixation à base d'oxyde de zirconium est utilisé, tandis qu'un gel à base de Chelex est employé pour la fixation des éléments traces métalliques (ET-DGT). Les deux types de DGT utilisent le même gel de diffusion.

Tout d'abord, deux solutions ont été préparées : une solution de gel contenant 15 % d'acrylamide et 0.3 % de DGT crosslinker, ainsi qu'une solution de persulfate d'ammonium à 10 % (0.1 g de persulfate d'ammonium en poudre pour 1 g d'eau). Le gel de diffusion a été préparé en mélangeant la solution de gel, la solution de persulfate d'ammonium, et en ajoutant du N,N,N',N'-tétraméthyléthylènediamine (TEMED) dans un rapport de 1 : 7 : 2.5. Ce mélange a ensuite été versé entre deux plaques de verre préalablement lavées à l'acide, avec un espace de 0.5 mm entre les plaques. Quant au gel de fixation à base d'oxyde de zirconium, un mélange de solution de gel, de solution de persulfate d'ammonium, de TEMED et de Chelex 100 a été réalisé dans un rapport de 1 : 6 : 1.5 : 0.4, puis coulé entre deux plaques lavées à l'acide, avec un espace de 0.25 mm entre les plaques. Les deux gels ont été séchés au four à 44 °C pendant 2 heures, puis lavés dans 1 litre d'eau déminéralisée pendant 24 heures, avec trois changements d'eau.

Pour le gel de fixation à base d'oxyde de zirconium, une étape supplémentaire est nécessaire. Ainsi, les gels sont immergés dans une solution de chlorure de zirconyle pendant 2 heures, avant d'être transférés dans une solution d'acide 2-(N-morpholino)-éthanesulfonique (MES) à 0.05 M et pH 6.7 pendant 40 minutes.

Les disques de gel ont été découpés, et les échantillonneurs DGT ont été assemblés 12 heures avant l'expérience DGT et conservés à 4°C. Les échantillons de sol ont été humidifiés jusqu'à atteindre une teneur en eau de 70 % à 90 % de la capacité de rétention en eau, puis 5 g de chaque échantillon de sol ont été placés sur un échantillonneur DGT. Les échantillonneurs DGT avec les échantillons de sol ont été incubés pendant 24 heures à 20 °C dans une enceinte avec une humidité relative de 100 %. Ensuite, le sol a été retiré, et les échantillonneurs DGT ont été ouverts avec précaution. Les gels Chelex ont été élués dans 5 mL de HNO₃ 1M, et les gels d'oxyde de zirconium ont été élués dans 5 mL de NaOH.

Chapitre 2 : Matériel et méthode

Les teneurs en Zn, Cd et Cu dans les échantillons d' HNO_3 ont été mesurées à l'aide de l'ICP. Les teneurs en P dans les échantillons de NaOH ont été mesurées en suivant la méthode du bleu de molybdène (Santner et al., 2010).

Analyse des échantillons de sol sec :

Les modifications des caractéristiques du sol ont été estimées en observant les variations du pH et de la conductivité du sol entre le début et la fin de l'expérience. pH et conductivité du sol ont été mesurés comme décrit dans l'expérience A.

Les variations de la disponibilité des ET et des nutriments ont été estimées à l'aide d'une extraction à 0,01 M de CaCl_2 dans un rapport de 1:10 (poids/poids). Les teneurs en ET et en phosphore ont été mesurées dans les extraits par ICP. La teneur en azote a été déterminée par méthode colorimétrique.

vi. Analyse de l'eau interstitielle du sol

Le pH et la conductivité ont été directement mesurés dans les échantillons d'eau de pores du sol à l'aide d'un pH-mètre (sensION et MM340) et d'un conductimètre (CD 810, TACUSSEL). La concentration en carbone organique dissous a été déterminée à l'aide d'un analyseur de carbone (TOC-V CSN, SHIMADZU). Les concentrations en ET et en phosphore dans l'eau interstitielle ont été mesurées par ICP en utilisant des méthodes normalisées et des procédures d'assurance qualité. La concentration en nitrate dans l'eau de pores du sol a été mesurée à l'aide d'une électrophorèse capillaire (ECZ) (P/ACE MDQ Capillary Electrophoresis System, Beckman Coulter).

vii. Analyse statistique

Toutes les données ont été analysées avec le logiciel R[®], version 3.6.1 ([The R Foundation for Statistical Computing Platform, 2019](#)). Les différences ont été considérées comme significatives lorsque la p-value était inférieure à 0.05. Lorsque l'homogénéité des variances ([test de Bartlett, Snedecor et Cochran, 1989](#)) et la normalité des résidus (test de Shapiro) étaient respectées, un test ANOVA et un test post-hoc de Tukey HSD ont été réalisés pour analyser les différences entre les traitements. Lorsque les conditions de normalité et d'homoscédasticité n'étaient pas satisfaites, le test non paramétrique de Kruskal-Wallis a été utilisé. Le test de corrélation de

Pearson a été effectué pour déterminer la relation entre les différents paramètres. Enfin, une régression linéaire multiple entre le poids des parties aériennes et les différents paramètres a également été calculée.

2.3.3 Expérience C : Étude transgénérationnelle de l'effet de l'activité des annélides sur les plantes en sol contaminé

i. Préparation en amont de l'expérience

Douze vers de terre matures ont été sélectionnés au hasard dans l'élevage de notre laboratoire comme reproducteurs afin d'obtenir 80 juvéniles pour le début de l'expérience. Quatre cosmes d'élevage ont été préparés. En résumé, dans un récipient en plastique (1 L), 500 g du sol CLX sec ont été humidifiés à 70 % de la capacité de rétention en eau et mélangés avec 20 g de fumier de cheval réhydraté (15 g sec). Trois adultes ont été placés dans chaque cosme. Chaque mois, le sol est retiré tandis que les vers de terre sont transférés dans un nouveau cosme préalablement préparé. L'ancien sol est tamisé frais à 1 mm en utilisant un courant d'eau du robinet pour collecter les cocons. Ceux-ci sont ensuite placés sur du papier filtre humidifié, et conservés à 20 °C dans une étuve. L'éclosion des cocons est vérifiée tous les deux jours, et les vers de terre juvéniles sont conservés dans un cosme à 4 °C jusqu'au début de l'expérience. Deux mois ont été nécessaires pour obtenir 80 juvéniles.

ii. Design expérimental et préparation des cosmes

Le design expérimental est résumé dans la Figure 1.2. Cette expérience a été menée dans une chambre expérimentale à température ambiante (min : 19,7 °C, moyenne : 23 °C, max : 24,5 °C) sous une lumière constante pour éviter que les vers de terre ne s'échappent des cosmes grâce à des barres LED agricoles (SpectraLINE 30 cm, 7W, SAMSUNG).

Chapitre 2 : Matériel et méthode

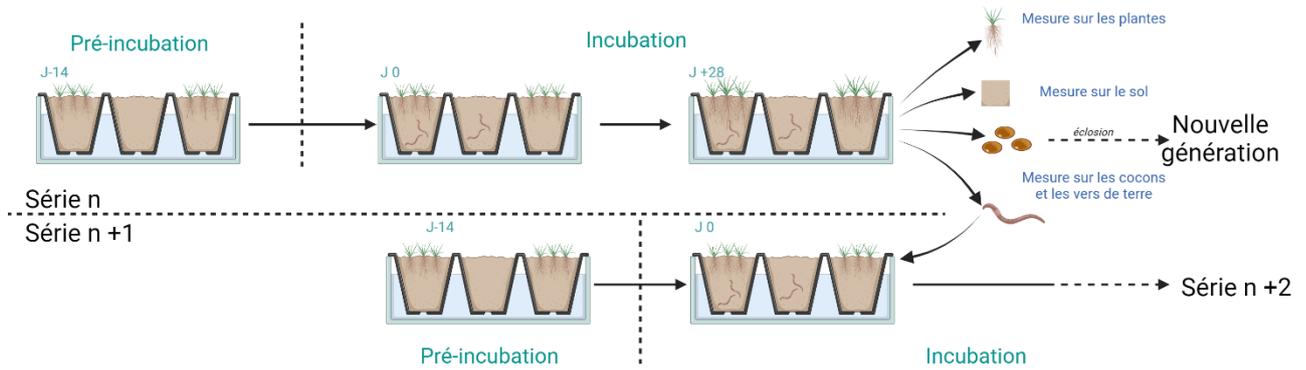


Figure 2.2: Schéma expérimental de l'expérience C

Au cours de cette expérience, plusieurs générations de vers de terre ont été élevées en parallèle, soit dans les sols CLX ou CHV, avec ou sans plantes. Pour chaque génération, 12 conditions ont été établies, avec cinq réplicats par condition. Deux densités de vers de terre ont été utilisées pour tester l'effet de la densité de vers de terre et l'impact de la reproduction sur la capacité des vers de terre à modifier les caractéristiques du sol.

Six conditions de référence dans le sol CLX ont été mises en place : 1/ Sol CLX avec seulement du fumier de cheval (contrôle sol non contaminé), 2/ Sol CLX avec du fumier de cheval et 10 plantules (contrôle planté non contaminé), 3/ Sol CLX avec du fumier de cheval avec 1 ver de terre par pot (1-Ea CLX), 4/ Sol CLX avec du fumier de cheval avec 3 vers de terre par pot (3-Ea CLX), 5/ Sol CLX avec du fumier de cheval, 10 plantules et 1 ver de terre par pot (1-EaL CLX), 6/ Sol CLX avec du fumier de cheval, 10 plantules et 3 vers de terre par pot (3-EaL CLX).

Le même modèle a été suivi avec le sol contaminé pour établir 2 conditions de contrôle contaminé et 4 conditions expérimentales : 1/ Sol CHV seulement (contrôle sol contaminé), 2/ Sol CHV avec 10 plantules, 3/ Sol CHV avec 1 ver de terre par pot (1-Ea CHV), 4/ Sol CHV avec 3 vers de terre par pot (3-Ea CHV), 5/ Sol CHV avec 10 plantules et 1 ver de terre par pot (1-EaL CHV), et 6/ Sol CHV avec 10 plantules et 3 vers de terre par pot (3-EaL CHV).

Les cosmes sont des pots de 1 litre (Green Basics, diamètre : 13 cm, hauteur : 7 cm, Elho). Ils ont été préparés 14 jours avant l'inoculation des vers de terre. 1 litre de sol (800 g de sol CHV sec et 700 g de sol CLX sec) humidifié à 70 % de la capacité de rétention en eau (CRE) a été placé

dans chaque pot. Dans le sol CLX, 28 g de fumier de cheval réhydraté (21 g sec) ont été mélangés au sol pour optimiser la croissance des vers de terre et servir de référence. Aucun fumier de cheval n'a été ajouté au sol CHV pour éviter une interaction entre le fumier de cheval et la contamination. 10 graines de *L. perenne* pré-germées ont été plantées dans les conditions 1-EaL et 3-EaL des sols CLX et CHV.

iii. Début de la première génération

Les quatre-vingts vers de terre juvéniles ont été triés à la main, lavés avec l'eau du robinet, et répartis au hasard dans l'une des huit conditions avec la présence de vers de terre. Les juvéniles ont été pesés avant l'inoculation à l'aide d'une balance de précision. Pour chaque échantillon, 20 g de sol frais ont été prélevés à l'aide d'une tarière de 2 cm de diamètre en trois points du cosme. Le sol a été ensuite mélangé, puis séché à l'air avant d'être tamisé à 2 mm et conservé pour analyse. Les cosmes sont ensuite incubés pendant 1 mois dans la pièce expérimentale.

iv. Changement de cosmes

Les cosmes sont changés tous les mois. Quatorze jours avant le changement de cosme, de nouveaux cosmes sont préparés et placés dans la chambre expérimentale. Lors du changement de cosme, les vers de terre sont extraits manuellement du sol, le taux de survie est établi, ainsi que l'état de maturité des vers (absence ou présence de clitellum). Ensuite, les vers sont pesés avant d'être inoculés dans un nouveau cosme. Les plantes sont récoltées délicatement. Dans chaque cosme, 20 g de sol frais sont prélevés et mis à sécher à l'air, puis tamisés à 2 mm. Le reste du vieux sol est tamisé à 1 mm pour collecter les cocons de vers de terre. Ces derniers sont ensuite placés sur du papier filtre humidifié à 20 °C pour l'éclosion. Les juvéniles ainsi obtenus sont conservés à 4 °C en vue de démarrer une nouvelle génération dans des conditions identiques à celles dans lesquelles ils ont été collectés.

Dans les nouveaux cosmes, encore 20 g de sol frais sont prélevés à l'aide d'une tarière de 2 cm de diamètre en trois points du cosme. Le sol est ensuite mélangé, puis séché à l'air avant d'être tamisé à 2 mm et conservé en vue de l'analyse. Les cosmes sont ensuite incubés pendant 1 mois dans la pièce expérimentale.

Chapitre 2 : Matériel et méthode

v. Début d'une nouvelle génération

Lorsque, pour chaque condition, le nombre de juvéniles (20 vers de terre par condition : 1-Ea CLX, 3-Ea CLX, 1-EaL CLX, 3-EaL CLX, 1-Ea CHV, 3-Ea CHV, 1-EaL CHV, 3-EaL CHV) est atteint, généralement après 6 à 8 mois, les 80 juvéniles de vers de terre sont triés à la main, lavés à l'eau du robinet, et répartis dans la même condition que celle où leur cocon a été trouvé.

vi. Fin d'une génération et de l'expérimentation

Une génération est considérée comme terminée lorsque tous les vers de terre de cette génération sont morts. Le point final de l'expérimentation a été défini à deux mois après le passage à l'état mature (clitellum totalement développé) de tous les vers de terre survivants de la troisième génération. Ce point final a eu lieu au 476^{ème} jour pour la deuxième génération et au 224^{ème} jour pour la troisième génération. La première génération s'est achevée après le jour 672, lorsque le dernier ver de terre est mort dans l'ensemble des conditions.

vii. Suivi des cocons

Les cocons collectés sont placés sur un papier filtre humidifié et réhydratés chaque jour avec de l'eau du robinet. Le taux et le temps d'éclosion des cocons ont été évalués tous les deux jours.

viii. Analyse des plantes

Après avoir été récoltées, les plantes ont été lavées pendant 10 secondes à l'eau du robinet, puis pendant 10 secondes à l'eau déionisée. Les parties aériennes et les racines sont séparées, puis séchées dans une étuve à 70 °C pendant 48 heures, et la biomasse sèche a été mesurée.

ix. Analyse des échantillons de sol

Deux indicateurs de l'activité des organismes dans le sol ont été analysés chaque mois : le pH et la conductivité du sol comme dans l'expérience A.

x. Analyse statistique

Toutes les données ont été analysées avec le logiciel R®, version 3.6.1 ([The R Foundation for Statistical Computing Platform, 2019](#)). Les différences ont été considérées comme significatives lorsque leur p-value était inférieure à 0.05. Lorsque l'homogénéité des variances (test de Bartlett

(Snedecor and Cochran, 1989) et la normalité des résidus (test de Shapiro) étaient respectées, un test ANOVA et un test post-hoc de différence significative honnête de Tukey (Tukey's HSD) ont été réalisés pour analyser les différences entre les traitements. Lorsque les conditions de normalité et d'homoscédasticité n'étaient pas satisfaites, le test de Kruskal-Wallis non paramétrique a été utilisé. Le test de corrélation de Pearson a été effectué pour déterminer la relation entre les différents paramètres. Des régressions linéaires entre la biomasse en vers de terre et les effets observés sur le sol et les plantes ont également été calculées.

2.3.4 Expérience D : Étude de l'héritage de l'activité des vers de terre dans un sol contaminé sur les plantes

i. Design expérimental

L'expérience a été réalisée dans une salle d'incubation avec une température naturelle (min : 17 °C, moyenne : 19 °C, max : 22 °C) et une période d'éclairage de 12 heures, en utilisant des rampes LED agricoles (barre horticole SpectraWILD S60 LED, 60W, Samsung & MeanWell). Des pots (Green Basic, diamètre : 17 cm, volume : 2 L, Elho©) ont été remplis avec 1.8 L de sol sec CHV (2.2 ± 0.3 kg). Afin d'étudier les interactions entre le sol, la plante et les vers de terre en évitant des facteurs confondants comme la sécheresse, les cosmes ont été placés dans des conditions optimales avec un taux d'humidité correspondant à 70 % de la capacité de rétention en eau et incubés pendant 4 mois.

Deux phases d'incubation ont été réalisées : une première avec la présence d'annélides pendant 2 mois, suivie du retrait des annélides et de l'installation ou non de plantes sur le sol préalablement travaillé par les annélides. Ainsi, une semaine avant le début de l'expérimentation, les pots ont été arrosés progressivement avec de l'eau du robinet pour atteindre une humidité du sol correspondant à 70 % de la capacité de rétention en eau. Deux jours avant le début de l'expérimentation, 110 vers de terre (10 vers de terre par pot) ont été placés sur un papier filtre humide pendant 48 heures pour vider leur contenu intestinal. Ainsi, 10 pots ont été incubés pendant 2 mois sans inoculation d'annélides, 10 pots ont été incubés après l'inoculation de 10 vers de terre par pots. Après 2 mois, les cosmes ont été démontés et les annélides retirés manuellement sous une loupe binoculaire. Le sol a ensuite été remis dans les pots.

Chapitre 2 : Matériel et méthode

Quatre traitements ont été réalisés avec cinq réplicats par condition : i/ le sol contaminé non travaillé par les annélides laissé nu (S-S), ii/ le sol contaminé non travaillé par les annélides suivi par la présence de plantes (S-P), iii/ le sol contaminé travaillé par des vers de terre laissé nu (Ea-S), iv/ le sol contaminé travaillé par les vers de terre suivi par la présence de plantes (Ea-L).

Trois jours avant le début de la deuxième phase d'incubation et l'installation des plantes, 300 graines de *L. perenne* (12 graines par pot) ont été mises à germer sur un papier filtre humide placé sous une faible lumière. Un jour avant le début de la deuxième phase, deux Rhizon samplers (MOM 10 cm, Eijkelkamp Agrisearch Equipment, Pays-Bas) ont été insérés dans le sol avec un angle de 45 ° afin de collecter l'eau interstitielle du sol. La transplantation des plantules correspond au début de l'expérimentation (T_0). Ainsi, 12 plantules ont été plantées dans chaque pot. L'eau interstitielle a été collectée deux heures après l'arrosage des pots et le début de l'expérimentation. 100 g de sol frais ont été collectés en trois points de chaque pot en utilisant une tarière de 2 cm de diamètre. 20 g ont été congelés à -20 °C et le reste du sol a été séché à l'air et tamisé à 2 mm.

À la fin de l'expérimentation, l'eau interstitielle du sol a été collectée deux heures après l'arrosage des pots, avant le démontage des cosmes. 150 g de sol frais ont été collectés en trois points de chaque pot en utilisant une tarière de 2 cm de diamètre. 20 g ont été congelés à -20 °C et le reste du sol a été séché à l'air et tamisé à 2 mm.

Les plantes ont été délicatement retirées du sol et rincées pendant 10 secondes à l'eau du robinet, puis pendant 10 secondes à l'eau déionisée. Les parties aériennes et souterraines sont séparées et séchées pendant 48 heures à 70 °C dans une étuve.

ii. Analyse des plantes

Le poids sec des plantes a été mesuré après le séchage des parties aériennes et racinaires. Les deux parties sèches sont ensuite broyées à 500 µm, et 0.5 g sont aliquotés pour chaque échantillon avant d'être digérées avec une solution d'acide nitrique concentré (acide nitrique 68 %, Normapur) dans un système à micro-ondes (CEM, MarsXpress, Matthews, NC, USA). Les solutions digérées ont par la suite été diluées avec 50 mL d'eau ultrapure (eau MilliQ, Millipore, 18 MΩ). Les

concentrations en Cu, Zn, et Cd dans les extraits sont mesurées par ICP (iCAP-7400, Thermo Fisher Scientific) en utilisant des méthodes standardisées et des procédures qualitatifs.

La teneur en azote dans les plantes a été déterminée par la méthode Dumas. Un aliquot de plantes séchées a été broyé une seconde fois en utilisant un vibro-broyeur (MM 301, Retsch). 5 mg de poudre de plante ont été encapsulés dans une capsule en étain. La teneur en azote a ensuite été déterminée via un analyseur CHNS (vario MICRO-cube, Elementar®).

iii. Analyses des échantillons de sol

Mesure de la biodisponibilité des nutriments et contaminants par l'utilisation de gradients de diffusion en couches minces (DGT) :

Les échantillons de sol sont décongelés progressivement à 4 °C 48 heures avant le début de l'expérience DGT et traités comme dans l'expérience B. Ce dispositif est utilisé pour évaluer la biodisponibilité des nutriments et des contaminants pour les plantes.

Les teneurs en Zn, Cd et Cu dans les échantillons élués avec HNO₃ ont été mesurées à l'aide de l'ICP. Les teneurs en P dans les échantillons élués avec NaOH ont été mesurées en suivant la méthode du bleu de molybdène (Santner et al., 2010).

Analyse des échantillons de sol sec :

Les modifications des caractéristiques du sol ont été estimées en observant les variations du pH et de la conductivité du sol entre le début et la fin de l'expérience comme dans l'expérience A.

Les variations de la disponibilité des ET et des nutriments ont été estimées à l'aide d'une extraction à 0.01 M de CaCl₂ selon un rapport de 1:10 (poids/poids). Les teneurs en ET et en phosphore ont été mesurées dans les extraits par ICP. La teneur en azote a été déterminée par méthode colorimétrique.

iv. Analyse de l'eau interstitielle du sol

Le pH et la conductivité ont été directement mesurés dans les échantillons d'eau de pores du sol à l'aide d'un pH-mètre (sensION et MM340) et d'un conductimètre (CD 810, TACUSSEL). La

Chapitre 2 : Matériel et méthode

concentration en carbone organique dissous a été déterminée à l'aide d'un analyseur de carbone (TOC-V CSN, SHIMADZU). Les concentrations en ET et en phosphore dans l'eau interstitielle ont été mesurées par ICP en appliquant des méthodes normalisées et des procédures d'assurance qualité. La concentration en nitrate dans l'eau de pores du sol a été mesurée à l'aide d'une ECZ (P/ACE MDQ Capillary Electrophoresis System, Beckman Coulter).

v. Analyse statistique

Toutes les données ont été analysées avec le logiciel R®, version 3.6.1 ([The R Foundation for Statistical Computing Platform, 2019](#)). Les différences ont été considérées comme significatives lorsque la p-value était inférieure à 0.05. Pour évaluer les différences entre les traitements, plusieurs méthodes d'analyse statistique ont été utilisées en fonction de la nature des données et de la conformité aux hypothèses statistiques. Lorsque l'homogénéité des variances ([test de Bartlett, Snedecor et Cochran, 1989](#)) et la normalité des résidus (test de Shapiro) étaient respectées, un test ANOVA (Analyse de la variance) a été réalisé pour comparer les moyennes entre les différents traitements. Si le nombre de traitements était supérieur ou égal à 3, un test post-hoc de Tukey HSD a été effectué pour identifier les paires de traitements ayant des différences significatives. Sinon, un test t de Student a été utilisé pour comparer deux traitements. Lorsque les conditions de normalité et d'homoscédasticité n'étaient pas satisfaites, le test non paramétrique de Kruskal-Wallis a été utilisé. Ce test permet de comparer les médianes des groupes. Le test de corrélation de Pearson a été effectué pour déterminer la relation entre les différents paramètres. Il évalue la force et la direction de la relation linéaire entre deux variables. Enfin, une régression linéaire multiple a été calculée pour évaluer la relation entre le poids des parties aériennes des plantes et les différents paramètres étudiés.

2.3.5 Expérience E : Lien entre la Localisation des Annélides et leurs effets sur les plantes en début de croissance

i. Schéma expérimental

Des rhizotrons de dimensions 400 x 300 x 22 mm ont été confectionnés à partir de deux panneaux en polystyrène transparent de 5 mm d'épaisseur, reliés par des profilés en PVC mesurant 12 mm d'épaisseur et 22 mm de large. Le volume interne de chaque rhizotron s'élevait

à 1.4 L et a été comblé avec 1.2 L de sol sec CHV, équivalent à environ 1.8 ± 0.3 kg de sol sec, formant une couche de 38 cm de hauteur.

Ces rhizotrons ont été placés dans une chambre expérimentale exposée aux conditions environnementales naturelles, y compris la lumière du jour et des variations de température allant de 8.3 °C (minimum) à 28.6 °C (maximum) pendant la durée de deux mois de l'expérience. Une semaine avant le début de l'expérience, le sol a été réhydraté en douceur en ajoutant de l'eau du robinet pour atteindre 80 % de sa capacité maximale de rétention en eau. Pour éviter toute perturbation de l'activité des organismes du sol, un matériau noir a été apposé sur les faces transparentes des rhizotrons. Trois jours avant le début de l'expérience, 200 graines de *L. perenne* ont été préalablement humidifiées et maintenues à 19 °C pendant 24 heures.

Huit traitements distincts ont été établis : 1/ sol contaminé uniquement (S), en tant que groupe de contrôle, 2/ sol contaminé avec la présence de plantes (L), 3/ sol contaminé avec l'inoculation de vers de terre (Ea), 4/ sol contaminé avec l'inoculation d'enchytréides (En), 5/ sol contaminé avec la présence de plantes et l'inoculation de vers de terre (EaL), 6/ sol contaminé avec la présence de plantes et l'inoculation d'enchytréides (EnL), 7/ sol contaminé avec l'inoculation de vers de terre et d'enchytréides (EaEn), et 8/ sol contaminé avec la présence de plantes et l'inoculation de vers de terre et d'enchytréides (EaEnL). Chacun de ces traitements a été répliqué cinq fois.

La densité de vers de terre matures utilisée était de 2.5 individus par kilogramme de sol, ce qui représente la moitié de la densité des expériences A, B, C et D, en raison des contraintes physiques liées à l'épaisseur réduite du sol dans les rhizotrons. Le même ratio enchytréides/vers de terre que dans les expériences B et D a été maintenu, ce qui signifie que 300 enchytréides, équivalant à environ 81 mg (le poids moyen d'un enchytréide étant de 0.27 ± 0.03 mg), ont été inoculés dans les rhizotrons pour les conditions En, EnL, EaEn et EaEnL. De plus, 5 vers de terre par rhizotron ont été inoculés pour les conditions Ea, EaL, EaEn et EaEnL, tandis que 5 plantules de *L. perenne* par rhizotron ont été plantées pour les conditions L, EaL, EnL et EaEnL. Les rhizotrons ont été divisés virtuellement pour le suivi en cinq couches de sol, chaque couche ayant une

Chapitre 2 : Matériel et méthode

profondeur spécifique : 1/ couche n°1 : 0 - 8 cm, 2/ couche n°2 : 8 - 16 cm, 3/ couche n°3 : 16 - 24 cm, 4/ couche n°4 : 24 - 32 cm, 5/ couche n°5 : 32 - 38 cm.

Pendant toute la durée de l'expérience, les rhizotrons ont été arrosés tous les deux jours avec de l'eau du robinet pour maintenir l'humidité du sol à 80 % de sa capacité de rétention en eau. La quantité d'eau à ajouter était calculée en pesant les rhizotrons. À chaque semaine, les rhizotrons ont été déplacés dans la salle expérimentale afin d'éviter les biais potentiels. L'emplacement des vers de terre et des galeries de vers de terre a été noté manuellement sur du papier calque, permettant ainsi le calcul de l'abondance relative dans chaque couche, en divisant le nombre de vers de terre et de galeries de vers de terre dans chaque couche par le nombre total de vers de terre et de galeries de vers de terre comptabilisés. Les enchytréides et les racines, en raison de leur petite taille, n'ont pas été reportés sur le papier calque. Après une semaine, la hauteur des plantes a été mesurée chaque semaine.

Après deux mois d'incubation, chaque rhizotron a été soigneusement ouvert, et les plantes entières ont été retirées, soigneusement lavées à l'eau du robinet, pesées, puis séchées au four à 80 °C pendant quatre jours. La colonisation des racines dans le sol a été déterminée en retirant avec précaution le système racinaire lors de l'ouverture des rhizotrons et en identifiant la couche de sol la plus profonde où les racines se terminaient. Dans chaque couche, 50 g de sol frais ont été prélevés, puis séchés à l'air et tamisés à 2 mm. De plus, 30 g de sol frais ont été prélevés et conservés à 4 °C pour quantifier la densité d'enchytréides dans chaque couche de sol. Les vers de terre ont été collectés à la fin de l'expérience par tri manuel. Leur emplacement dans le rhizotron a été documenté, et le taux de survie a été calculé. Les vers de terre ont ensuite été placés individuellement sur des papiers filtres humidifiés pendant 48 heures pour éliminer le contenu de leur tube digestif, avant d'être pesés.

ii. Analyse des Plantes

Après le séchage au four à 80 °C pendant quatre jours, la biomasse sèche a été mesurée, et la biomasse fraîche et sèche standardisée a été calculée en divisant la biomasse totale par le nombre de plantes dans chaque rhizotron.

iii. Analyse des Enchytréides

Des échantillons de 25 g de sol frais de chaque couche, prélevés à partir du sol conservé à 4°C, ont été dispersés dans des boîtes de Pétri d'un diamètre de 140 mm. Le nombre d'individus a été quantifié en utilisant une loupe binoculaire après coloration avec une solution de rose de Bengale (300 µL diluée dans 5 mL d'éthanol à 96 %) pendant 12 heures. L'abondance relative des enchytréides dans chaque couche de sol a été calculée en divisant le nombre d'enchytréides trouvés dans la couche de sol par le nombre total d'enchytréides trouvés dans le rhizotron. Le nombre total d'enchytréides dans le rhizotron a été estimé en multipliant le nombre total d'individus trouvés dans les échantillons par le rapport du poids total de sol dans le rhizotron divisé par le poids total de l'échantillon de sol.

iv. Analyse des Échantillons de Sol

Le pH du sol a été mesuré conformément à la norme ISO 10390:1994 (F) pour chaque couche de sol de chaque rhizotron à la fin de l'expérience.

v. Analyse Statistique

L'ensemble des données a été soumis à une analyse statistique à l'aide du logiciel R®, version 3.6.1 ([The R Foundation for Statistical Computing Platform, 2019](#)). Les différences ont été considérées comme significatives lorsque la p-value était inférieure à 0.05. Lorsque les conditions d'homogénéité des variances ([test de Bartlett, Snedecor et Cochran, 1989](#)) et de normalité des résidus (test de Shapiro) étaient respectées, des tests d'ANOVA et des tests post-hoc de différence significative honnête de Tukey (Tukey's HSD) ont été réalisés pour analyser les différences entre les traitements. En cas de non-conformité aux conditions de normalité et d'homoscédasticité, le test non paramétrique de Kruskal-Wallis a été utilisé.

3. CHAPITRE 3 : LES INTERACTIONS VERS DE TERRE - PLANTES DANS UN SOL CONTAMINÉ

Dans ce chapitre, nous nous concentrons spécifiquement sur les interactions entre les vers de terre et les plantes à court terme, en utilisant des expériences en cosmes (Expériences A et B, Chapitre 2). Ces expériences visent à répondre aux questions suivantes (Figure 3.0) : Les vers de terre et les plantes peuvent-ils tolérer une exposition à un sol faiblement contaminé sur une période courte ? Les interactions entre les vers de terre et les plantes sont-elles influencées de la même manière dans un sol non contaminé et dans un contexte contaminé ? L'activité des vers de terre dans un sol contaminé peut-elle conduire à une augmentation de la croissance des plantes ? (Q1, Q2, Introduction). Ce chapitre est divisé en deux parties :

La première partie (3.1) vise à valider nos conditions expérimentales et nos indicateurs en vérifiant les hypothèses suivantes : 1/ Il n'y a pas de toxicité aiguë pour les plantes et les vers de terre (indicateurs de survie et de croissance), 2/ L'activité des vers de terre laisse une empreinte sur le sol (indicateurs de pH et de conductivité du sol), et 3/ La biomasse aérienne des plantes augmente en présence de vers de terre (indicateurs de poids frais et sec).

La seconde partie (3.2) présente l'étude des flux d'éléments induits par les organismes et leurs impacts sur les plantes pour valider les hypothèses suivantes : 1/ Les vers de terre induisent à la fois des flux d'éléments nutritifs et d'EPT vers les plantes, et 2/ La combinaison de ces deux flux conduit à une amélioration de la biomasse aérienne des plantes.

La première partie de ce chapitre exploite les résultats obtenus lors de l'Expérience A. Cette expérience *ex-situ* consiste en une incubation de deux mois de cosmes avec ou sans vers de terre (10 vers par cosme) et avec ou sans plantes (30 graines par cosme) dans le sol d'étude CHV. Parallèlement, trois conditions de référence ont été établies dans de la tourbe avec les mêmes densités de vers de terre et de graines de *L. perenne*. La seconde partie exploite les résultats de l'Expérience B, qui se concentre uniquement sur les vers de terre. Cette expérience est également menée de manière *ex-situ* en incubant des cosmes utilisant le sol d'étude CHV, pendant deux mois, avec une densité de 10 vers et 12 graines par cosme.

Le travail de l'Expérience A a été publié dans un article en 2021 dans la revue Environmental Pollution, portant sur l'effet des vers de terre sur la réponse des plantes dans les sols contaminés par des métaux, en mettant l'accent sur les relations entre les parties souterraines et aériennes des plantes (voir Annexe 1).

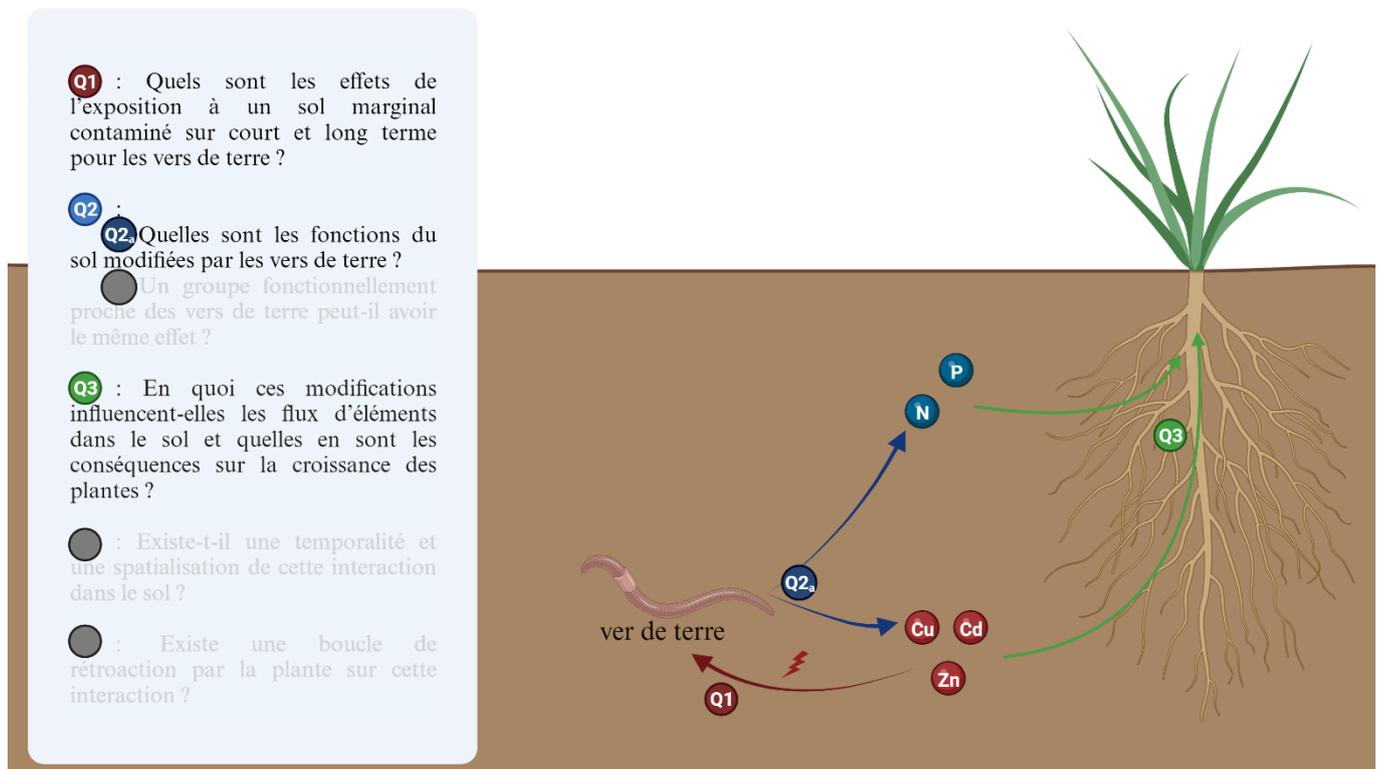


Figure 3.0 : Schéma conceptuel des questions du chapitre 3

3.1 MISE EN EVIDENCE DES INTERACTIONS VERS DE TERRE - PLANTES DANS UN CONTEXTE DE SOL CONTAMINE

3.1.1 Validation des conditions sublétales

Afin de vérifier les conditions sublétales, des indicateurs de toxicité pour les vers de terre et les plantes ont été examinés.

i. Conditions sublétales pour les vers de terre

Le poids moyen des vers de terre au début (T_0 , incubation) et à la fin de l'incubation (T_f , 2 mois), ainsi que le taux de survie à la fin de l'expérience (T_f), sont présentés dans le tableau 3.1.

Chapitre 3 : Les interactions vers de terre - plantes dans un sol contaminé

Nous avons veillé à ce que le poids moyen des vers de terre inoculés à T_0 dans les différentes conditions soit pratiquement identique (test de Wilcoxon : $p > 0.05$), avec un poids moyen de 321.50 mg par individu pour la condition Ea-NC et 335.72 mg par individu pour la condition Ea. Après deux mois d'incubation, une augmentation du poids moyen a été observée dans les deux conditions, atteignant un poids moyen de 425.56 mg par individu pour la condition Ea-NC et 423.68 mg par individu pour la condition Ea par rapport aux valeurs initiales à T_0 . Un taux de survie identique de 98.33 % a été observé pour les deux conditions (test de Wilcoxon : $p > 0.05$).

Tableau 3.1: Poids et taux de survie des vers de terre. Le poids (mg.individu^{-1}) des vers de terre a été mesuré au début et à la fin de l'expérimentation. Le taux de survie des vers de terre a été établi à la fin de l'expérimentation. Les vers de terre ont été incubés pendant deux mois dans le substrat non contaminé (Tourbe, NC) ou le sol contaminé (CHV). Les différences significatives entre les valeurs de poids des vers de terre sont indiquées par des lettres différentes (Tukey-HSD : $p < 0.05$), tandis que les différences significatives dans les taux de survie sont marquées par différents numéros (Wilcoxon : $p < 0.05$). Valeur moyenne \pm écart-type, $n = 6$

Condition		Poids (mg.individu^{-1})		Taux de survie (%)
		T_0	T_f	
Non contaminé (NC)	Ea-NC	321.50 \pm 23.14 (a)	425.56 \pm 32.10 (b)	98.33 \pm 4.08 (1)
Contaminé (CHV)	Ea	335 \pm 18.79 (a)	423.68 \pm 37.89 (b)	98.33 \pm 4.08 (1)

Les teneurs en Cu, Zn, et Cd ont été mesurées dans les vers de terre exposés au sol contaminé (Ea) et comparées aux valeurs des vers de terre issus de l'élevage dans le sol non contaminé (Ea-ref). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 3.2.

Tableau 3.2 : Teneurs en Cu, Zn et Cd accumulées dans les vers de terre. Les teneurs en Cu, Zn et Cd ($\mu\text{g.g}^{-1}$) ont été mesurées dans les vers de terre exposés au sol contaminé (condition Ea) ainsi que dans les vers de terre issus de l'élevage non contaminé (Ea-ref) à la fin de l'expérimentation. Les différences significatives ($p < 0.05$) entre les valeurs sont représentées par différentes lettres pour chaque espèce chimique (Test t). Valeur moyenne \pm écart-type, $n = 6$.

Condition		Cu ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	Zn ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	Cd ($\mu\text{g.g}^{-1}$)
Non contaminé (CLX)	Ea-ref	13.13 \pm 1.70 (a)	799.77 \pm 148.75 (a)	13.09 \pm 4.08 (a)
Contaminé (CHV)	Ea	28.05 \pm 4.31 (b)	715.37 \pm 110.34 (a)	12.40 \pm 1.24 (a)

Les teneurs mesurées en Zn et Cd dans les vers de terre exposés au sol contaminé (Ea) ne présentent pas de différences statistiquement significatives (Test t : $p > 0.05$) par rapport aux

teneurs mesurées dans les vers de terre issus de l'élevage dans le sol non contaminé (Ea-ref), avec des valeurs d'environ $800 \mu\text{g.g}^{-1}$ pour le Zn et d'environ $14 \mu\text{g.g}^{-1}$ pour le Cd. En revanche, des teneurs plus élevées en cuivre ont été observées dans les vers de terre exposés au sol contaminé (conditions Ea) par rapport aux vers de terre issus de l'élevage dans un environnement non contaminé (Ea-ref) (Test t : $p < 0.05$), avec des valeurs d'environ $28 \mu\text{g.g}^{-1}$ pour les conditions Ea et $13 \mu\text{g.g}^{-1}$ pour les vers de terre issus de l'élevage non contaminé (Ea-ref). Les teneurs accumulées par les vers de terre au cours de cette expérimentation demeurent inférieures à celles observées lors d'autres travaux utilisant également *A. caliginosa*. Par exemple, Morgan & Morgan (1999) ont relevé des teneurs internes en Zn plus de deux fois supérieures à nos valeurs ($1\ 834 \mu\text{g.g}^{-1}$ contre $715.37 \mu\text{g.g}^{-1}$ ici) et plus de 26 fois supérieures pour le Cd ($344 \mu\text{g.g}^{-1}$ contre $12.40 \mu\text{g.g}^{-1}$ ici) dans des vers *A. caliginosa* issus d'un ancien site minier de Llantrisant (Pays de Galles). Concernant le Cu, des teneurs similaires, autour de $30 \mu\text{g.g}^{-1}$, ont été observées dans diverses études (Dai et al., 2004 ; Morgan & Morgan, 1999). Ces résultats suggèrent que *A. caliginosa* est capable d'accumuler des teneurs beaucoup plus élevées en Zn et Cd tout en se maintenant dans des sols naturels. Les teneurs proches en Cu peuvent suggérer l'existence d'un seuil d'accumulation.

Le sol CHV est un sol riche en matière organique, ce qui permet une alimentation adéquate des vers de terre pendant toute la durée de l'expérimentation. L'augmentation de la masse des vers de terre entre le début et la fin de l'expérimentation, ainsi que le taux de survie élevé (supérieur à 95 %), suggèrent une faible toxicité du sol par rapport à d'autres travaux où des vers de terre ont été exposés à des ET (Kunhikrishnan et al., 2013).

Dans nos conditions expérimentales, ces résultats nous permettent de valider notre hypothèse, qui est l'absence de toxicité aiguë pour les vers de terre.

ii. Conditions sublétales pour les plantes

Un taux de germination similaire a été observé entre les graines semées en sol contaminé (L) avec un taux de germination de $68 \pm 8 \%$ et les graines semées dans la tourbe non contaminée (L-NC) avec un taux de germination de $72 \pm 9 \%$ (Wilcoxon : $p > 0.05$).

Chapitre 3 : Les interactions vers de terre - plantes dans un sol contaminé

Les résultats concernant le poids sec des plantes (mg.plante^{-1}) pour la partie aérienne et la partie racinaire des plantes cultivées sur la tourbe non contaminée (L-NC) ou dans le sol contaminé (L) sont présentés sur la Figure 3.1. Ainsi, on observe un poids de la partie aérienne plus faible lors d'une culture en sol contaminé, avec une diminution de 38 % dans la condition L par rapport aux valeurs obtenues dans la condition L-NC. En revanche, une forte augmentation de la masse racinaire en sol contaminé a été observée, avec une hausse d'un facteur de l'ordre de 5.

La longueur de la partie aérienne des plantes (Fig. 3.2) a été mesurée chaque semaine, de la première à la dernière semaine de l'expérience, pour les conditions L et L-NC (Fig. 3.2). On a observé une augmentation de la longueur de la partie aérienne jusqu'à la quatrième semaine, à la fois pour les conditions L et L-NC. Une fois que la croissance maximale a été atteinte, les plantes cultivées dans le substrat non contaminé (L-NC) ont montré une longueur de la partie aérienne significativement plus grande, mesurant 33.5 cm, comparée à la longueur de 28.2 cm observée pour la partie aérienne des plantes cultivées dans le sol contaminé (L). Les teneurs en chlorophylle dans les feuilles (Fig. 3.3) n'ont pu être mesurées qu'à partir de la troisième semaine, les feuilles n'étant pas assez larges lors des semaines 1 et 2 pour la cellule de mesure. Aucune différence n'a été observée entre les conditions L et L-NC (Tukey-HSD : $p > 0.05$). En revanche, une augmentation de la teneur en chlorophylle dans les feuilles a été observée au cours de la semaine 3 à la semaine

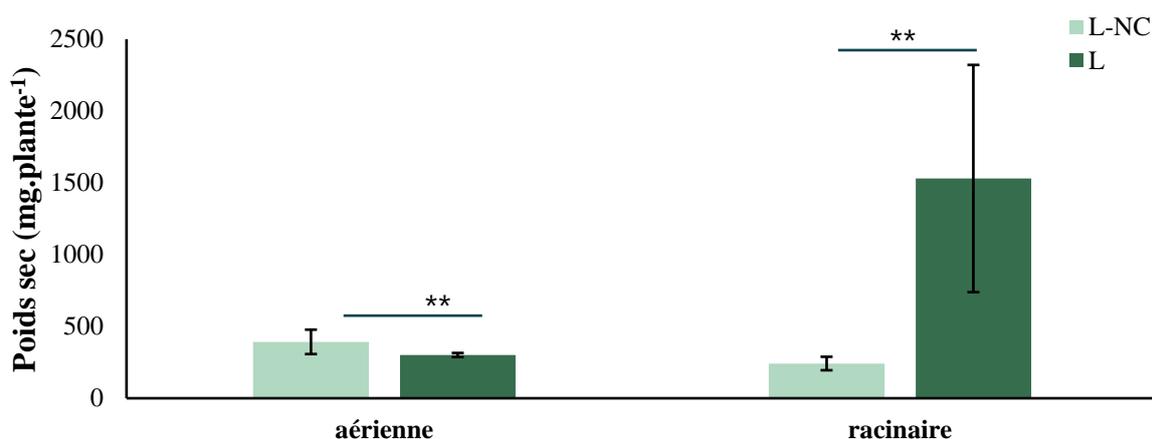


Figure 3.1: Poids sec (mg.plante^{-1}) des parties aériennes et racinaires des plantes cultivées dans le substrat non contaminé (L-NC) et dans le sol contaminé (L). Les différences significatives entre les valeurs sont indiquées par ** ($p < 0.01$) pour chaque partie (Wilcoxon)

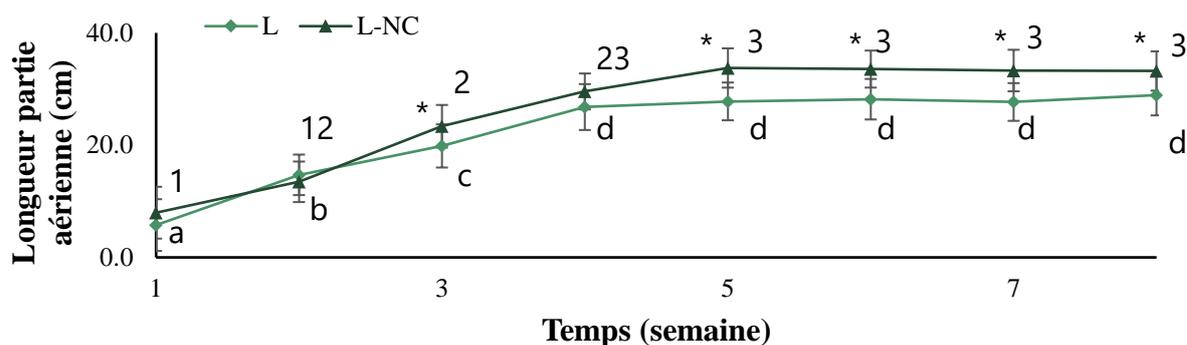


Figure 3.2 : Moyenne de la longueur de la partie aérienne, mesurée du collet à l'extrémité de la feuille la plus longue (en cm), sur 10 plantes par cosme. Les différences significatives entre les conditions sont indiquées par * (Tukey-HSD : $p < 0.05$) pour chaque semaine. Les différences significatives entre les différentes semaines pour la condition L sont représentées par des lettres différentes (Tukey-HSD : $p < 0.05$), et pour la condition L-NC, elles sont indiquées par des chiffres différents (Tukey-HSD : $p < 0.05$). $n = 6$.

6, passant de 15.3 unités SPAD (L) et 15.8 unités SPAD (L-NC) à 32.5 unités SPAD (L) et 31.9 unités SPAD (L-NC) (Tukey-HSD : $p < 0.05$), puis une stabilisation à partir de la semaine 6 (Tukey-HSD : $p > 0.05$).

Les teneurs en ET (Cu, Zn, Cd) dans les parties aériennes et racinaires des plantes cultivées sur le sol contaminé (L) ou le substrat non contaminé (L-NC) sont présentées dans le tableau 3.3.

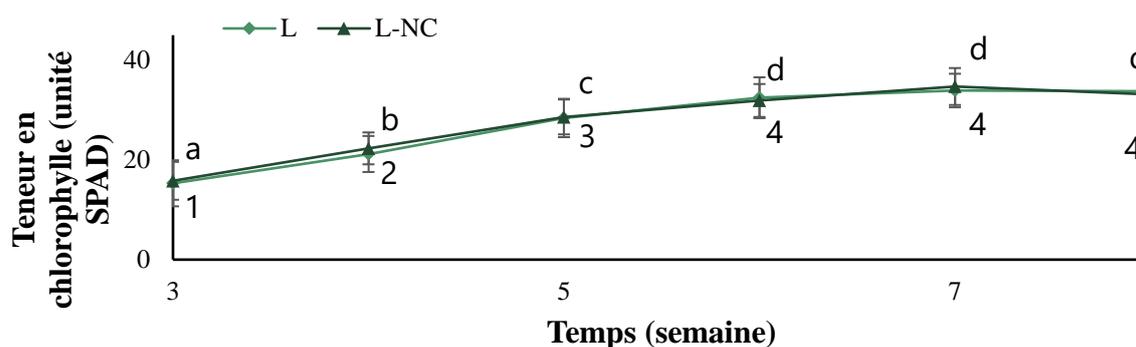


Figure 3.3: Moyenne de la teneur en chlorophylle (unités SPAD) mesurée sur la deuxième feuille de 10 plantes par cosme. Chaque mesure a été effectuée en triplicat sur la feuille, et la moyenne a été rapportée. Les différences significatives entre les conditions sont indiquées par un astérisque (*, Tukey-HSD : $p < 0.05$) pour chaque semaine. Les différences significatives entre les différentes semaines pour la condition L sont notées avec différentes lettres (Tukey-HSD : $p < 0.05$), tandis que pour la condition L-NC, elles sont indiquées par différents chiffres. $n = 6$.

Chapitre 3 : Les interactions vers de terre - plantes dans un sol contaminé

Pour le Cu, il n'y a pas de différence significative entre la teneur dans la partie aérienne et la partie racinaire (Wilcoxon : $p > 0.05$) des plantes cultivées sur le substrat non contaminé (L-NC). Le ratio entre la concentration dans la partie aérienne et la partie racinaire est d'environ 0.84, avec une concentration de $27.29 \mu\text{g.g}^{-1}$ pour la partie aérienne et $37.71 \mu\text{g.g}^{-1}$ pour la partie racinaire. Après la culture sur un sol contaminé, il n'y a pas de changement significatif dans la teneur en Cu de la partie aérienne par rapport à la valeur de L-NC (Wilcoxon : $p > 0.001$). Cependant, les teneurs en Cu accumulées dans la partie racinaire sont multipliées par un facteur de 3 par rapport aux valeurs de la condition L-NC. Cette accumulation de Cu dans la zone racinaire se traduit par une diminution du ratio, d'environ 0.26 (Wilcoxon : $p > 0.05$).

En ce qui concerne le Zn et le Cd, on observe une augmentation des teneurs dans les parties aériennes et racinaires des plantes cultivées en sol contaminé par rapport aux valeurs de la condition L-NC. Pour le Zn, il y a une augmentation d'environ un facteur de 3 pour la partie aérienne, passant ainsi de 71.01 (L-NC) à $227.01 \mu\text{g.g}^{-1}$ (L), et d'environ un facteur de 9.6 pour la partie racinaire, passant de 37.81 (L-NC) à $363.77 \mu\text{g.g}^{-1}$ (L) (Wilcoxon : $p < 0.05$). Pour le Cd, il y a une augmentation d'environ un facteur de 2.5 pour la partie aérienne, passant ainsi de 0.34 (L-NC) à $0.90 \mu\text{g.g}^{-1}$ (L), et d'environ un facteur de 9 pour la partie racinaire, passant de 0.77 (L-NC) à $6.42 \mu\text{g.g}^{-1}$ (L) (Wilcoxon : $p < 0.001$).

Tout comme pour le Cu, une accumulation dans la partie racinaire est observée pour le Zn et le Cd, avec une diminution du ratio entre les teneurs de la partie aérienne et celles de la partie racinaire. En effet, ce ratio passe de 2.19 pour la condition L-NC à 0.65 pour la condition L concernant le Zn, et de 0.48 pour la condition L-NC à 0.16 pour la condition L concernant le Cd (Wilcoxon : $p < 0.05$).

Les teneurs accumulées dans la partie aérienne des plantes cultivées en sol contaminé sont supérieures aux valeurs de fond pour le Cu, atteignant $28.34 \mu\text{g.g}^{-1}$, alors que l'intervalle typique se situe entre 3 et $20 \mu\text{g.g}^{-1}$. De même, pour le Zn, la concentration est élevée, atteignant $227.01 \mu\text{g.g}^{-1}$, tandis que la plage habituelle se situe entre 15 et $150 \mu\text{g.g}^{-1}$. Toutefois, ces valeurs restent proches des limites de phytotoxicité couramment admises pour les plantes en général, qui sont

généralement comprises entre 500 et 1 500 $\mu\text{g.g}^{-1}$ pour le Zn, entre 5 et 700 $\mu\text{g.g}^{-1}$ pour le Cd, et entre 25 et 40 $\mu\text{g.g}^{-1}$ pour le Cu (Chaney, 1989).

Tableau 3.3 : Teneurs en Cu, Zn, et Cd ($\mu\text{g.g}^{-1}$) dans les parties aériennes et racinaires des plantes cultivées sur un substrat non contaminé (L-NC) ou contaminé (L), ainsi que le ratio des concentrations entre la partie aérienne et racinaire des plantes. Les différences significatives (Wilcoxon : $p < 0.05$) entre les valeurs sont indiquées par des lettres différentes pour chaque espèce chimique. Valeur moyenne \pm écart-type $n = 6$.

Condition	partie	Cu ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	Zn ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	Cd ($\mu\text{g.g}^{-1}$)
L-NC	aérienne	27.29 \pm 4.16 (a)	71.01 \pm 15.15 (a)	0.34 \pm 0.14 (a)
	racinaire	37.71 \pm 14.15 (a)	37.81 \pm 21.66 (b)	0.77 \pm 0.17 (bc)
	ratio (aérienne / racinaire)	0.84 \pm 0.44 (b)	2.19 \pm 0.74 (c)	0.48 \pm 0.29 (ab)
L	aérienne	28.34 \pm 5.12 (a)	227.01 \pm 25.01 (d)	0.90 \pm 0.24 (c)
	racinaire	113.78 \pm 28.37 (c)	363.77 \pm 87.70 (e)	6.42 \pm 2.75 (d)
	ratio (aérienne / racinaire)	0.26 \pm 0.08 (d)	0.65 \pm 0.14 (f)	0.16 \pm 0.06 (e)

La diminution du ratio teneur aérienne sur teneur racinaire suggère que *L. perenne* est capable de limiter la translocation des ET de la partie racinaire vers la partie aérienne. Un mécanisme possible expliquant cela est la séquestration des ET dans la paroi des cellules racinaires par le biais d'un transport apoplastique (Marastoni et al., 2019).

Aucune toxicité aiguë n'a été observée au cours de cette expérimentation, que ce soit en termes de taux de germination ou de teneur en chlorophylle des feuilles. Toutefois, une réduction de la croissance de la partie aérienne, tant en termes de longueur que de biomasse aérienne, suggère une toxicité sublétales des ET (Brunetto et al., 2016).

Ces résultats confirment notre hypothèse selon laquelle il n'y a pas de toxicité aiguë pour les plantes.

3.1.2 Mise en évidence de l'interaction vers de terre - plantes

i. Modification des caractéristiques physico-chimiques du sol par les vers de terre et la plante

Les résultats de l'évolution du pH et de la conductivité du sol en présence ou en l'absence de vers de terre sont présentés sur la Figure 3.4. Les valeurs initiales (T_0) du pH ne sont pas significativement différentes ($p > 0.05$) et varient entre 7.90 et 7.69 pour les différentes conditions. En présence de vers de terre uniquement (Ea), une diminution significative du pH du sol de 0.54 unité de pH ($p < 0.01$) est observée entre les valeurs initiales et finales. En revanche, une augmentation du pH du sol est observée en présence de plantes, qu'il y ait ou non des vers de terre ($p < 0.05$). Ainsi, on observe une augmentation de 0.88 unité de pH pour la condition L et de 0.30 pour la condition EaL entre les valeurs initiales à T_0 et les valeurs finales à T_f . Concernant la conductivité, une augmentation significative des valeurs est observée en présence de vers de terre uniquement (Ea), passant ainsi de 143.67 à 220 μS . Pour les autres conditions, aucun changement significatif n'a été observé, avec des valeurs restant autour de 130 à 140 μS .

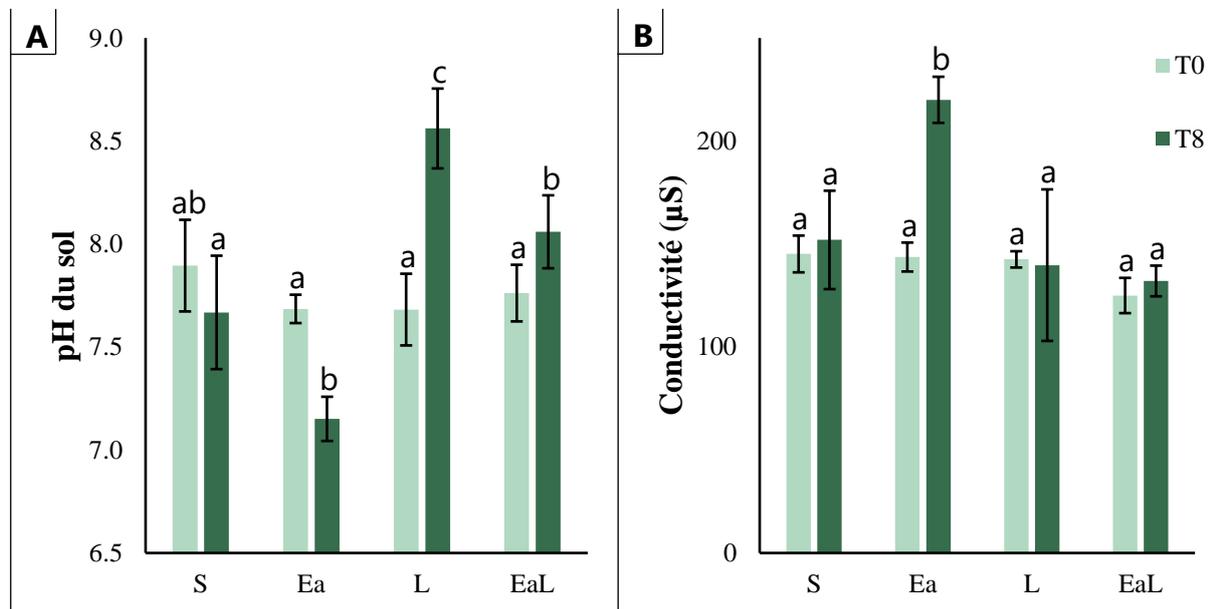


Figure 3.4 : L'évolution des caractéristiques physicochimiques du sol CHV, à savoir le pH (A) et la conductivité (B), a été étudiée dans les différentes conditions : en l'absence de plantes et de vers de terre (S), en présence de vers de terre (Ea), en présence de plantes (L), et en présence à la fois de plantes et de vers de terre (EaL). Les différences significatives (Wilcoxon : $p < 0.05$) entre les valeurs sont indiquées par des lettres différentes pour chaque paramètre. Les mesures ont été effectuées sur un échantillon de 6 répétitions ($n = 6$).

Les vers de terre sont fréquemment considérés comme des ingénieurs du sol en raison de leur capacité à modifier l'environnement qui les entoure et à créer ainsi des micro-habitats (Singh et al., 2016). Ils sont particulièrement réputés pour leur influence sur le pH du sol. Cependant, différentes études ont rapporté aussi bien une acidification que, dans d'autres cas, une alcalinisation du sol provoquées par l'activité des vers de terre (Sizmur & Hodson, 2009). Les facteurs qui déterminent le sens de ces variations de pH, ainsi que les mécanismes sous-jacents, restent encore largement méconnus, bien que l'on suppose qu'ils dépendent en grande partie du type de vers.

Les activités rhizosphériques des plantes peuvent également induire des modifications du pH au niveau du sol (Lombi et al., 2000). En effet, l'excrétion d'ions H^+ , HCO_3^- , ainsi que d'acides organiques, vise d'une part à favoriser l'absorption des nutriments et d'autre part à réguler le pH des cellules racinaires, ce qui peut entraîner des variations de pH dans le sol de la rhizosphère (Bravin et al., 2008). Dans nos conditions expérimentales, les activités des vers de terre et des plantes induisent des variations de pH dans des directions opposées, mais l'effet global, lorsqu'ils interagissent, semble pencher en faveur de l'activité des plantes.

L'augmentation de la conductivité observée en présence de vers de terre indique une augmentation des ions ou des molécules chargées dans les échantillons d'eau extraits du sol. Il convient de noter que les vers de terre sont également reconnus pour stimuler les flux d'éléments dans le sol (Blouin et al., 2013 ; Brown et al., 2004). En effet, par le biais de leur activité de bioturbation et d'ingestion du sol, ils modifient le statut de la matière organique du sol, la rendant directement ou indirectement accessible à la minéralisation par les micro-organismes du sol. Cela entraîne une augmentation de la disponibilité des nutriments et des EPT dans le milieu environnant (Bailey et al., 2019). Le flux d'ions en solution généré par l'activité des vers de terre (E_a) ne se retrouve pas dans les conditions où les plantes sont présentes (E_{aL}), suggérant que les plantes tirent avantage de ce flux pour leur propre bénéfice.

Ainsi, dans un contexte de contamination diffuse et sublétales, les vers de terre sont capables de maintenir une activité de modification du sol suffisamment marquée pour influencer à la fois le pH et la conductivité du sol. Cependant, dans nos conditions expérimentales, avec un ratio de

Chapitre 3 : Les interactions vers de terre - plantes dans un sol contaminé

Tableau 3.4 : Poids ($\text{mg}\cdot\text{individu}^{-1}$) à T_0 et T_f , ainsi que le taux de survie des vers de terre (%), incubés pendant deux mois, soit dans un substrat non contaminé (NC), soit dans un sol contaminé (CHV). Les différences significatives entre les valeurs du poids des vers de terre sont indiquées par des lettres différentes (Tukey-HSD : $p < 0,05$), et celles du taux de survie par différents numéros (Wilcoxon : $p < 0,05$). Valeur moyenne \pm écart-type, $n = 6$.

Condition		Poids ($\text{mg}\cdot\text{individu}^{-1}$)		Taux de survie (%)
		T_0	T_f	
Non contaminé (NC)	EaL-NC	319.87 \pm 26.02 (a)	349.06 \pm 41.47 (a)	95.00 \pm 8.37 (1)
Contaminé (CHV)	EaL	317.39 \pm 28.74 (a)	326.76 \pm 43.12 (a)	98.33 \pm 4.08 (1)

10 vers de terre pour 23 plantes dans 2 kg de sol, les plantes semblent masquer l'effet des vers de terre sur le sol lorsque ces deux éléments interagissent.

ii. Interaction ver de terre - plante : Effet des plantes sur maintien des vers de terre dans un sol contaminé

En présence de plantes, les informations relatives au poids par individu et au taux de survie des vers de terre dans les conditions EaL-NC et EaL sont présentées dans le tableau 3.4. Le poids moyen des vers de terre inoculés à T_0 dans les deux conditions est pratiquement identique (Wilcoxon : $p > 0.05$), avec un poids moyen de 317.39 mg par individu pour la condition EaL et de 319,87 mg par individu pour la condition EaL-NC. Ces valeurs ne présentent pas de différences significatives par rapport à celles des conditions Ea-NC et Ea (Tableau 3.1). Après deux mois d'incubation, le poids moyen par individu est demeuré inchangé dans les conditions où des plantes étaient présentes (EaL-NC et EaL), que le sol soit contaminé ou non. En effet, un poids moyen de 349.06 mg par individu a été calculé pour la condition EaL-NC et de 326.76 mg par individu pour la condition EaL. Cela contraste avec les conditions en l'absence de plantes (Ea-NC, Ea ; Tableau 3.1), où une augmentation de la biomasse a été observée au cours des deux mois d'incubation (Wilcoxon : $p < 0.05$).

En ce qui concerne le taux de survie, aucune différence significative n'a été constatée entre les conditions (Wilcoxon : $p > 0.05$). Un taux de survie de 95.00 % a été observé pour la condition EaL-NC, et de 98.33 % pour les conditions EaL.

Les résultats des teneurs en Cu, Zn et Cd sont présentés dans le tableau 3.5 et comparés aux valeurs du tableau 3.2.

Les teneurs en Zn et Cd mesurées chez les vers de terre exposés à un sol contaminé en présence de plantes (condition EaL) ne présentent pas de différence statistiquement significative (Tukey-HSD : $p > 0.05$) par rapport aux teneurs mesurées chez les vers de terre issus d'un élevage en sol non contaminé (Ea-ref), avec des valeurs d'environ 800 à 850 $\mu\text{g.g}^{-1}$ pour le Zn et autour de 14 à 16 $\mu\text{g.g}^{-1}$ pour le Cd. Cependant, en présence de plantes (EaL), des teneurs plus élevées en Zn et Cd ont été observées chez les vers de terre par rapport à celles mesurées en l'absence de plantes (Ea), avec une augmentation de 21 % pour le Zn et de 36 % pour le Cd. En ce qui concerne les teneurs en Cu, une tendance inverse est observée, avec des teneurs plus élevées chez les vers de terre exposés au sol contaminé, qu'il y ait des plantes ou non (Ea et EaL), par rapport à celles provenant de l'élevage en sol non contaminé (Ea-NC) (Wilcoxon : $p < 0.05$). Ainsi, la teneur en Cu chez les vers de terre de la condition EaL a été multipliée par 2 par rapport à la valeur des vers de terre Ea-NC. Cependant, la présence de plantes n'influence pas les teneurs accumulées chez les vers de terre, car aucune différence n'a été observée entre les conditions Ea et EaL (Wilcoxon : $p > 0.05$).

Tableau 3.5 : Teneurs en Cu, Zn et Cd ($\mu\text{g.g}^{-1}$) dans les vers de terre exposés au sol contaminé (conditions Ea et EaL), ainsi que dans les vers de terre provenant d'un élevage en sol non contaminé (Ea-ref). Les différences significatives ($p < 0.05$) entre les valeurs sont indiquées par des lettres différentes pour chaque espèce chimique (Tukey-HSD). Valeur moyenne \pm écart-type, $n = 6$.

Condition		Cu ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	Zn ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	Cd ($\mu\text{g.g}^{-1}$)
Non-Contaminé (CLX)	Ea-Ref	13.13 \pm 1.70 (a)	799.77 \pm 148.75 (a)	13.09 \pm 4.08 (a)
Contaminé (CHV)	EaL	26.43 \pm 5.78 (b)	865.20 \pm 57.01(b)	16.87 \pm 2.34 (b)

La présence de plantes augmente l'accumulation de Zn et de Cd dans le corps des vers de terre. Ce résultat peut sembler surprenant compte tenu de l'alcalinisation du sol par les plantes, suggérant plutôt une immobilisation de Zn et de Cd dans la fraction solide du sol (Sauvé et al., 2000). Cependant, les vers de terre peuvent être exposés aux ET par deux principales voies : la première est cutanée, et la seconde est intestinale lors de l'ingestion de sol. Ainsi, une alcalinisation du sol pourrait réduire l'exposition par voie cutanée, mais, dans nos conditions, augmenterait l'exposition par voie intestinale, entraînant une accumulation plus importante de ces ET par les vers de terre. Néanmoins, ces changements restent modestes et demeurent

inférieurs aux teneurs observées dans d'autres études mentionnées dans la section 3.1.1-i (Morgan & Morgan, 1999). Cette conclusion est renforcée par l'absence de variation de la mortalité des vers de terre.

En revanche, une stabilisation du poids des vers de terre a été observée en présence de plantes. Lors du démontage des pots, un volume racinaire considérable a été observé, susceptible de provoquer une congestion volumique dans le cosme, limitant ainsi les activités géophages des vers de terre et par conséquent leur gain de masse.

Malgré l'augmentation des teneurs en Zn et Cd dans les vers de terre, aucune toxicité aiguë n'a été observée au cours de l'expérience A.

iii. Interaction ver de terre - plante : Effet des vers de terre sur le développement des plantes sur un sol contaminé

Le taux de germination observé dans les deux conditions EaL et EaL-NC est respectivement de $76 \pm 5 \%$ et $72 \pm 11 \%$. Ces taux sont similaires à ceux observés pour les conditions L et L-NC (Wilcoxon : $p > 0.05$).

Les poids secs des parties aériennes et racinaires (mg.plante^{-1}) des plantes des conditions EaL-NC et EaL sont présentés dans la Figure 3.5 et comparés aux résultats des conditions L-NC et L (Fig. 3.5). En ce qui concerne la biomasse aérienne, aucune différence significative n'a été observée entre les conditions EaL-NC et EaL (Wilcoxon : $p > 0.05$). Pour les deux conditions, la présence de vers de terre induit une augmentation du poids de la partie aérienne de 24 % (EaL-NC) et de 46 % (EaL) par rapport aux valeurs obtenues dans les conditions L-NC et L, respectivement. En ce qui concerne la partie racinaire, un poids racinaire plus élevé a été observé dans la condition EaL par rapport à la condition EaL-NC (Wilcoxon : $p < 0.05$). Cependant, cette valeur reste 4.5 fois plus faible que celle observée dans la condition L en l'absence de vers de terre (Wilcoxon : $p < 0.01$). Aucune différence significative n'a été observée entre les conditions L-NC et EaL-NC (Wilcoxon : $p > 0.05$).

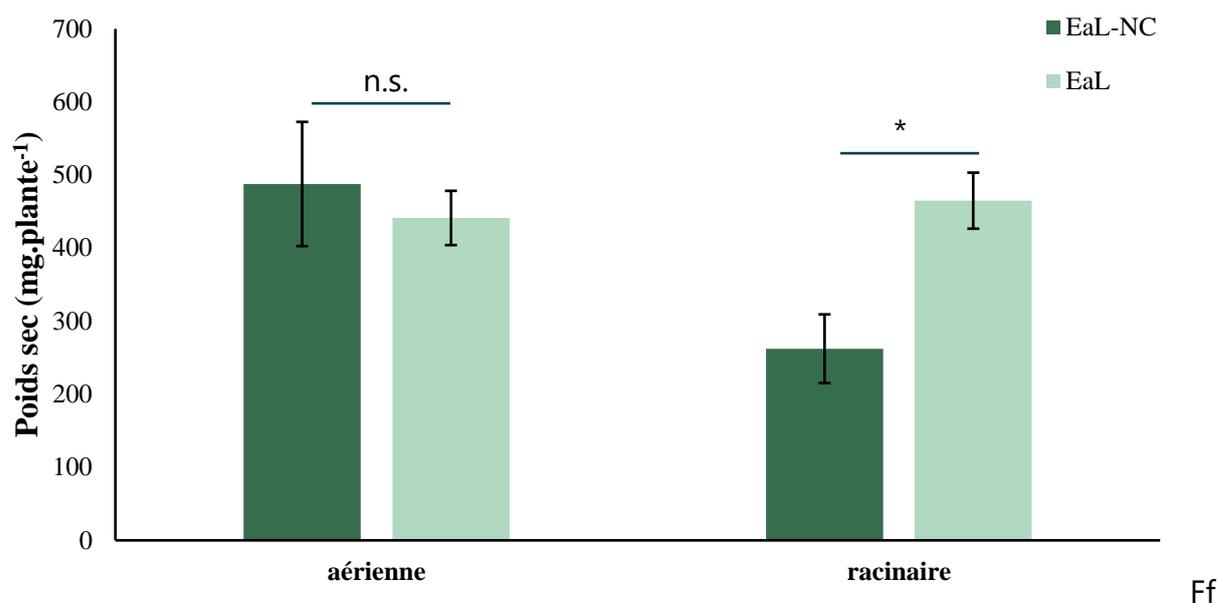


Figure 3.5: Poids sec (mg.plante⁻¹) des parties aériennes et racinaires des plantes cultivées sur le substrat non contaminé en présence de vers de terre (EaL-NC) et sur le sol contaminé en présence de vers de terre (EaL). Les différences significatives entre les valeurs sont représentées par le symbole * ($p < 0.05$) pour chaque partie (test de Wilcoxon), tandis que le symbole n.s. indique l'absence de différence significative ($p > 0.05$). $n = 6$.

La longueur de la partie aérienne des plantes a été mesurée chaque semaine, débutant dès la première semaine et se poursuivant jusqu'à la fin de l'expérimentation pour les conditions EaL et EaL-NC (Fig. 3.6). Comme pour les conditions L et L-NC, une augmentation de la longueur de la partie aérienne a été observée jusqu'à la quatrième semaine pour les conditions EaL et EaL-NC. Une fois la croissance maximale atteinte, une longueur significativement plus grande de la partie aérienne a été mesurée pour les plantes cultivées dans le substrat non contaminé (EaL-NC) par rapport à celles cultivées dans un sol contaminé (EaL), avec une longueur de 34.3 cm par rapport à 30.6 cm. En revanche, la présence de vers de terre n'a pas eu d'impact sur la longueur de la partie aérienne. Aucune différence n'a été observée entre les conditions EaL et L, ainsi que entre les conditions EaL-NC et L-NC (Tukey-HSD : $p > 0.05$). Les teneurs en chlorophylle sont illustrées dans la Figure 3.7. Aucune différence n'a été constatée entre les conditions EaL et EaL-NC (Tukey-HSD : $p > 0.05$). Cependant, une augmentation de la teneur en chlorophylle dans les feuilles a été observée entre la troisième et la sixième semaine, passant de 14,6 unités SPAD (EaL) et 15,2 unités SPAD (EaL-NC) à 31.1 unités SPAD (EaL) et 31,9 unités SPAD (EaL-NC) (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Par la suite, une stabilisation a été observée à partir de la sixième semaine (Tukey-HSD: $p > 0.05$).

Chapitre 3 : Les interactions vers de terre - plantes dans un sol contaminé

Aucune différence significative n'a été relevée entre les conditions EaL et L, ni entre les conditions EaL-NC et L-NC (Tukey-HSD: $p > 0.05$).

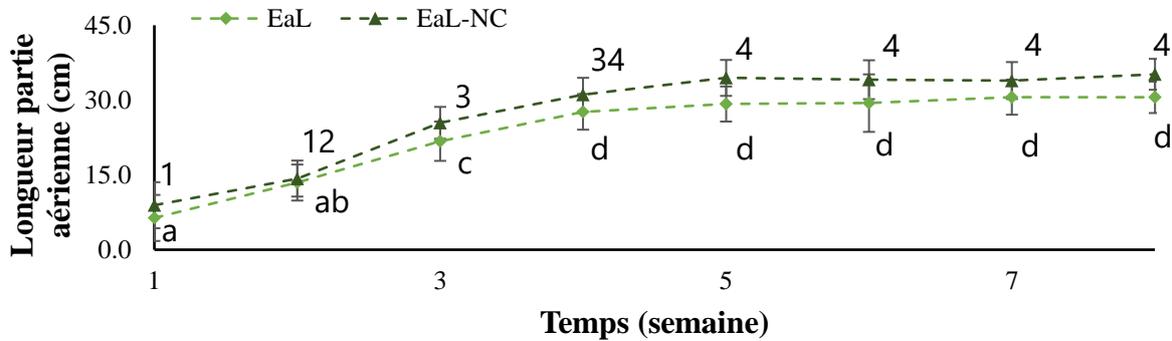


Figure 3.6 : Moyenne de la longueur de la partie aérienne du collet jusqu'à l'extrémité de la feuille la plus longue (cm) mesurée sur 10 plantes par cosme. Les différences significatives entre les conditions sont indiquées par * (Tukey-HSD : $p < 0.05$) pour chaque semaine. Les différences significatives entre les différentes semaines pour la condition EaL sont représentées par des lettres différentes (Tukey-HSD : $p < 0.05$), tandis que pour la condition EaL-NC, elles sont marquées par des chiffres différents (Tukey-HSD : $p < 0.05$). $n = 6$.

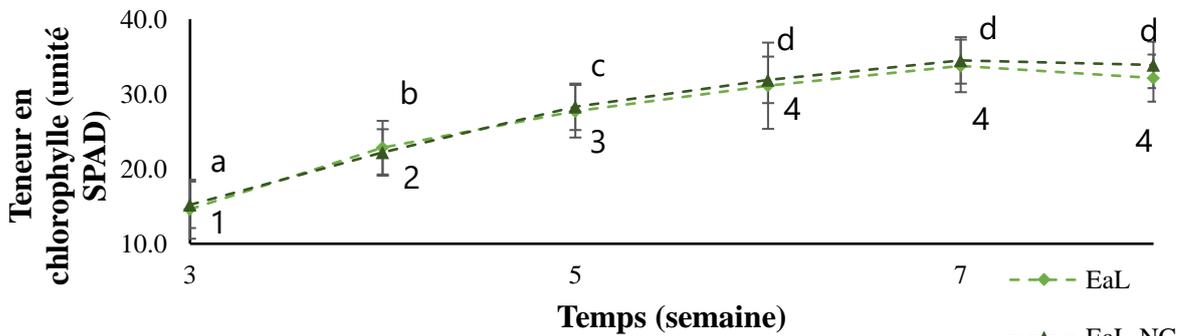


Figure 3.7 : Moyenne de la teneur en chlorophylle (unités SPAD) mesurée sur la deuxième feuille de 10 plantes par cosme. Chaque mesure a été effectuée en triplicat sur la feuille, et la moyenne a été enregistrée. Les différences significatives entre les conditions sont indiquées par * (Tukey-HSD : $p < 0.05$) pour chaque semaine. Les différences significatives entre les différentes semaines pour la condition EaL sont représentées par des lettres différentes (Tukey-HSD : $p < 0.05$), tandis que pour la condition EaL-NC, elles sont marquées par des chiffres différents (Tukey-HSD : $p < 0.05$). $n = 6$.

Les teneurs en ET (Cu, Zn, Cd) dans les parties aériennes et racinaires des plantes cultivées sur le sol contaminé en présence de vers de terre (EaL) ou non contaminé (EaL-NC) sont reportées dans le tableau 3.6. En ce qui concerne le Cu, des teneurs du même ordre de grandeur ont été observées entre la partie aérienne et racinaire des plantes cultivées sur le substrat non contaminé (EaL-NC) (Wilcoxon : $p > 0.05$) avec $25.77 \mu\text{g.g}^{-1}$ pour la partie aérienne et $35.77 \mu\text{g.g}^{-1}$ pour la

partie racinaire. De plus, ces valeurs sont similaires à celles observées pour les plantes cultivées sur le substrat non contaminé en absence de vers de terre (L-NC) (Wilcoxon : $p > 0.05$).

Tableau 3.6 : Teneurs en Cu, Zn, Cd ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) dans les parties aériennes et racinaires des plantes cultivées sur le substrat non contaminé en présence de vers de terre (EaL-NC) ou contaminé en présence de vers de terre (EaL), ainsi que le ratio des concentrations entre la partie aérienne et racinaire des plantes. Les différences significatives (Wilcoxon : $p < 0.05$) entre les valeurs sont indiquées par des lettres différentes pour chaque espèce chimique. Valeur moyenne \pm écart-type, $n = 6$.

Condition	partie	Cu ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Zn ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Cd ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
EaL-NC	aérienne	25.77 \pm 4.77 (a)	68.57 \pm 5.88 (a)	0.47 \pm 0.28 (a)
	racinaire	35.77 \pm 8.59 (a)	35.74 \pm 8.64 (b)	0.77 \pm 0.18 (b)
	ratio (aérienne / racinaire)	0.74 \pm 0.15 (b)	2.00 \pm 0.46 (c)	0.67 \pm 0.45 (ab)
EaL	aérienne	27.23 \pm 5.46 (a)	192.89 \pm 24.07 (d)	0.75 \pm 0.23 (b)
	racinaire	242.38 \pm 172.45 (c)	392.34 \pm 126.20 (e)	5.64 \pm 2.35 (c)
	ratio (aérienne / racinaire)	0.17 \pm 0.11 (d)	0.53 \pm 0.15 (f)	0.14 \pm 0.04 (d)

Lorsque les plantes sont cultivées sur le sol contaminé en présence de vers de terre (EaL), aucun changement de concentration en Cu dans les parties aériennes n'est observé en comparaison des autres conditions (L, L-NC et EaL-NC) (Wilcoxon : $p > 0.05$) avec une concentration de 27.23 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Tout comme pour la condition L, une augmentation de la teneur en Cu dans la partie racinaire atteignant 242.38 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en comparaison de la valeur de la condition EaL-NC (Wilcoxon : $p > 0.05$) est observée.

Concernant le Zn et le Cd, une augmentation des teneurs à la fois dans les parties aériennes et racinaires des plantes cultivées en sol contaminé en présence de vers de terre (EaL), en comparaison des valeurs obtenues dans la condition EaL-NC, est observée. Pour le Zn, on observe une augmentation de l'ordre d'un facteur 3 pour la partie aérienne, passant ainsi de 68.57 (EaL-NC) à 192.89 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (EaL), et d'un facteur 11 pour la partie racinaire, passant de 35.74 (EaL-NC) à 392.34 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (EaL) (Wilcoxon : $p < 0.01$). Pour le Cd, une augmentation d'un facteur 1.5 pour la partie aérienne est observée, passant ainsi de 0.47 (EaL-NC) à 0.75 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (EaL), et d'un facteur 7 pour la partie racinaire, passant ainsi de 0.77 (EaL-NC) à 5.64 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (EaL) (Wilcoxon : $p < 0.001$).

Chapitre 3 : Les interactions vers de terre - plantes dans un sol contaminé

Comme pour le Cu, une accumulation dans la partie racinaire est observée pour le Zn et Cd avec une diminution du ratio des teneurs de la partie aérienne sur les teneurs de la partie souterraine. Ce ratio passe de 2.00 pour la condition EaL-NC à 0.53 pour la condition EaL concernant le Zn et de 0.67 pour la condition EaL-NC à 0.14 pour la condition EaL concernant le Cd (Wilcoxon : $p < 0.05$). En revanche, aucune différence n'a été observée entre les teneurs observées dans les conditions L et EaL (Wilcoxon : $p > 0.05$).

Le tableau 3.7 présente les exsudats racinaires détectés dans les solutions collectées dans les conditions L et EaL. Alors que les exsudats racinaires ont été analysés pour le carbone organique total, l'azote total, les phénols totaux, les flavonoïdes totaux, les composés chélatants et les carboxylates, nos résultats montrent que la présence de vers de terre n'a affecté de manière significative uniquement les composés chélatants. Le traitement EaL a montré une concentration 150 % plus faible de composés chélatants dans la rhizosphère de *L. perenne* par rapport à ceux du traitement L.

Tableau 3.7 : Composition des exsudats racinaires collectés sur deux plantes de chaque cosme. Les différences significatives (test de Wilcoxon) sont indiquées par différents symboles : n.s. ($p > 0.05$), * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$). Les valeurs sont distinguées par différentes lettres pour chaque groupe chimique. Valeur moyenne \pm écart-type, $n = 12$.

	L	EaL	p-value
Carbone organique total (mg.g ⁻¹ root FW)	1.03 \pm 0.96	0.92 \pm 0.9	n.s.
Azote total (mg.g ⁻¹ root FW)	0.02 \pm 0.02	0.02 \pm 0.02	n.s.
Phénols total (mg gallic acid eq. .g ⁻¹ root FW)	0.05 \pm 0.03	0.02 \pm 0.01	n.s.
Flavonoïdes total flavonoids (mg rutin eq. .g ⁻¹ root FW)	0.20 \pm 0.09	0.22 \pm 0.16	n.s.
Chelating compounds (mg EDTA eq. .g ⁻¹ root FW)	1.85 \pm 1.25	0.59 \pm 0.38	*
Citrate (mg.g ⁻¹ root FW)	0.84 \pm 0.63	0.46 \pm 0.32	n.s.
Malate (mg.g ⁻¹ root FW)	3.76 \pm 3.73	2.44 \pm 1.35	n.s.
Lactate (mg.g ⁻¹ root FW)	6.11 \pm 4.59	4.35 \pm 2.44	n.s.

Nous avons mis en évidence l'existence d'interactions directes ou indirectes entre les vers de terre et les plantes dans un sol contaminé. En effet, la combinaison des possibles effets bénéfiques et négatifs liés à la présence des vers de terre aboutit à une amélioration de la croissance des

plantes, se traduisant par une augmentation de la biomasse aérienne. Contrairement à ce qui avait été suggéré précédemment (Sizmur & Richardson, 2020), la présence des vers de terre n'affecte ni l'accumulation des ET par les plantes ni leur toxicité. En d'autres termes, nous n'observons ni une réduction de la teneur en chlorophylle dans les feuilles, ni de signes de chlorose au niveau des feuilles. De plus, nous ne détectons aucun changement dans les teneurs internes en Cd et Zn pour les plantes cultivées en présence ou en l'absence de vers de terre, dans ce contexte de sol contaminé en conditions sublétales. Enfin, nous notons une légère réduction des teneurs en Cu dans les plantes en présence de vers de terre.

Ces résultats sur l'accumulation des métaux dans les plantes indiquent que ces dernières sont capables de réguler l'absorption et la translocation des métaux dans le sol. Dans nos conditions expérimentales, il semble que les plantes masquent les effets des vers de terre sur les paramètres physico-chimiques du sol, tels que le pH et la conductivité du sol. Il est important de noter que le pH du sol joue un rôle significatif dans la biodisponibilité des ET, en particulier pour le Zn et le Cd, avec une augmentation de leur biodisponibilité en cas de diminution du pH du sol. De plus, les plantes sont capables de réguler leurs exsudats racinaires, y compris les composés chélateurs. Ces composés forment des complexes avec les ET, favorisant leur mobilisation par les plantes (Chaignon et al., 2002 ; Shenker et al., 2001 ; Neumann & Romheld, 2000). La régulation de ces composés est l'un des facteurs clés qui peut expliquer la régulation de l'absorption des métaux par les plantes (Anderson et al., 2023 ; Antoniadis et al., 2017 ; Neumann & Romheld, 2000).

Il convient également de noter que les effets des vers sur la croissance des plantes observés en sol contaminé sont de l'ordre de grandeur de ceux généralement observés en sol non contaminé. Par exemple, dans une revue, van Groenigen et al. (2014) ont montré que la présence de vers de terre entraînait une augmentation de la biomasse aérienne des plantes de l'ordre de 17 % à 33 %. Dans des sols tempérés et tropicaux, Scheu et al. (2003) et Brown et al. (2004) ont respectivement rapporté une augmentation de la biomasse aérienne dans 79 % et 75 % des cas. En ce qui concerne la biomasse racinaire, Scheu et al. (2003) a signalé une réduction de la biomasse racinaire dans 38 % des cas. Ces observations peuvent être attribuées à deux mécanismes : 1/ l'augmentation de la nutrition des plantes modifie les allocations énergétiques pour la croissance, entraînant une augmentation du rapport partie aérienne/racinaire (van

Groenigen et al., 2014). 2/ l'abrasion mécanique des racines due aux activités de fouissage des vers de terre, en particulier lors d'expériences en pot, où les vers de terre sont confinés dans la masse racinaire.

Dans nos conditions, la présence des vers de terre entraîne une augmentation de la biomasse aérienne et une réduction de la biomasse racinaire des plantes, sans provoquer d'effets négatifs supplémentaires tels qu'une accumulation accrue de contaminants ou des effets toxiques. De plus, l'intensité de ces effets est comparable à ce qui est observé dans les sols non contaminés. Cela confirme notre hypothèse selon laquelle l'interaction entre les vers de terre et les plantes persiste dans un contexte de sol contaminé de façon diffuse.

L'absence de toxicité aiguë pour les vers de terre et les plantes, ainsi que la préservation de l'interaction entre les vers de terre et les plantes dans un contexte contaminé, confirment nos choix concernant les espèces biologiques, le sol et le design expérimental pour étudier les interactions en conditions sublétales. Dans la suite de ce chapitre, nous explorerons les flux impliqués dans ces interactions, ainsi que leurs limites spatiales et temporelles.

3.2 LES FLUX IMPLIQUES DANS L'INTERACTION ENTRE LES VERS DE TERRE ET LES PLANTES DANS UN CONTEXTE CONTAMINE

3.2.1 Effet des annélides et des plantes sur les caractéristiques du sol et de l'eau interstitielle du sol

Le pH et la conductivité du sol ont été mesurés, et les résultats sont présentés dans le tableau 3.8.

Dans le sol, les valeurs du pH (Wilcoxon : $p > 0.05$) et de la conductivité (Tukey-HSD : $p > 0.05$) sont similaires entre les différentes conditions, avec un pH du sol d'environ 7.80 et une conductivité d'environ 95 μS . Après deux mois d'incubation, en présence de plantes (L et EaL), une augmentation du pH (Wilcoxon : $p < 0.01$) a été observée, passant de 7.80 à 8.51 (L) et de 7.73 à 8.62 (EaL). Cependant, en présence de vers de terre uniquement (Ea), une tendance inverse a été observée avec une diminution du pH de 0.79 unité de pH entre T_0 et T_f (Wilcoxon : $p < 0.05$). En ce qui concerne la conductivité du sol, une augmentation a été observée au cours de l'incubation

dans la condition contrôle (S) avec une augmentation de 34 % (Tukey-HSD : $p < 0.001$). En présence de vers de terre sans plantes (Ea), une augmentation plus importante de la conductivité par rapport à la condition S a été observée (Tukey-HSD : $p < 0.001$), avec une augmentation de 81 %. Cependant, en présence de plantes (L et EaL), des valeurs similaires à celles mesurées au début de l'incubation ont été observées à T_f (Tukey-HSD : $p > 0.05$), avec une conductivité moyenne de 97.91 μS dans la condition L et de 95.56 μS dans la condition EaL.

Dans l'eau interstitielle du sol, un pH d'environ 7.6 et une conductivité de 330 à 350 μS ont été mesurés dans les différentes conditions. Après deux mois d'incubation, aucun changement du pH (Wilcoxon : $p > 0.05$) n'a été observé, mais une augmentation de 100 μS a été observée dans la condition contrôle S. En présence de vers de terre uniquement (Ea), une baisse du pH de l'eau interstitielle de 0.52 unité de pH (Wilcoxon : $p < 0.01$) a été observée, ainsi qu'une augmentation de la conductivité de 75 % (Tukey-HSD : $p < 0.001$) par rapport aux valeurs initiales. En présence de plantes, que les vers de terre soient présents ou non, une augmentation du pH autour de 8.35 (Wilcoxon : $p < 0.01$) est mesurée. Une diminution de la conductivité de 79 % pour la condition L et de 85 % pour la condition EaL (Tukey-HSD : $p < 0.001$) a également été observée.

En ce qui concerne le carbone organique dissous, une diminution a été observée dans toutes les conditions. Dans la condition contrôle, la concentration en carbone organique dissous dans l'eau interstitielle est passée de 94.18 mg.L^{-1} à 46.47 mg.L^{-1} (Wilcoxon : $p < 0.01$). Une diminution moindre a été observée en présence de vers de terre uniquement (Ea) par rapport à la condition S, avec une concentration passant de 94.44 mg.L^{-1} à 65.66 mg.L^{-1} (Wilcoxon : $p < 0.01$). Enfin, en présence de plantes (L et EaL), une diminution plus importante a été observée par rapport à la condition S (Wilcoxon : $p < 0.01$). Les concentrations en carbone organique dissous passent de 98.26 mg.L^{-1} à 17.91 mg.L^{-1} pour la condition L et de 94.44 mg.L^{-1} à 65.66 mg.L^{-1} pour la condition EaL.

Tableau 3.8 : Paramètres physico-chimiques du sol et de l'eau interstitielle du sol. Les différences significatives (Wilcoxon : $p < 0.05$ pour le pH du sol, le pH de l'eau interstitielle et le carbone organique dissous ; Tukey-HSD : $p < 0.05$ pour la conductivité du sol et la conductivité de l'eau interstitielle) entre les valeurs sont indiquées par des lettres différentes pour chaque paramètre. La couleur verte indique une augmentation significative entre T_0 et T_f , à l'inverse la couleur rouge indique une diminution. Les données sont présentées sous la forme valeur moyenne \pm écart-type, $n = 5$.

	Sol						eau interstitielle du sol					
	pH		Conductivité (μS)		pH		Conductivité (μS)		Carbone organique dissous (mg.L^{-1})			
	T_0	T_f	T_0	T_f	T_0	T_f	T_0	T_f	T_0	T_f	T_0	T_f
S	7.81 ± 0.08 (a)	7.66 \pm 0.17 (a)	94.18 \pm 9.64 (a)	126.47 \pm 4.23 (b)	7.53 \pm 0.09 (a)	7.69 \pm 0.04 (a)	354.46 \pm 15.45 (a)	452.58 \pm 10.53 (b)	94.18 \pm 9.64 (a)	46.47 \pm 4.23 (b)		
L	7.80 \pm 0.08 (a)	8.51 \pm 0.21 (b)	98.26 \pm 10.51 (a)	97.91 \pm 4.07 (a)	7.56 \pm 0.26 (a)	8.35 \pm 0.08 (b)	335.38 \pm 15.98 (a)	70.80 \pm 12.58 (c)	98.26 \pm 8.43 (a)	17.91 \pm 4.07 (c)		
Ea	7.85 \pm 0.03 (a)	7.06 \pm 0.13 (c)	94.44 \pm 8.43 (a)	171.66 \pm 4.76 (d)	7.68 \pm 0.10 (a)	7.16 \pm 0.12 (c)	343.98 \pm 28.35 (a)	604.02 \pm 10.98 (d)	94.44 \pm 8.43 (a)	65.66 \pm 6.01 (d)		
EaL	7.73 \pm 0.13 (a)	8.62 \pm 0.18 (b)	87.68 \pm 8.03 (a)	95.56 \pm 4.94 (a)	7.62 \pm 0.19 (a)	8.34 \pm 0.10 (b)	351.12 \pm 27.11 (a)	52.43 \pm 15.34 (c)	87.68 \pm 8.03 (a)	15.56 \pm 4.94 (c)		

3.2.2 Effet des plantes et des vers de terre sur les flux nutritifs

i. Disponibilité environnementale des nutriments

La disponibilité environnementale des nutriments (azote et phosphore) a été mesurée à travers deux extractions, dont les résultats sont présentés sur la Figure 3.8.

Nous observons un schéma similaire pour les deux nutriments dans les extraits CaCl_2 . En effet, au cours de l'incubation, aucun changement n'a été observé pour la condition contrôle S (Wilcoxon : $p > 0.05$). La teneur moyenne en azote a été mesurée à 6.39 mg.g^{-1} à T_0 et à 5.85 mg.g^{-1} à T_f , tandis que les concentrations moyennes en phosphore étaient de 0.50 mg.g^{-1} à T_0 et à T_f . De même, en présence de plantes uniquement (L), des teneurs similaires à la condition S ont été observées (Wilcoxon : $p > 0.05$). En revanche, en présence de vers de terre (Ea et EaL), une augmentation de la teneur en azote et en phosphore dans les extraits CaCl_2 réalisés sur les échantillons de sol initiaux (T_0) et finaux (T_f) a été mesurée (Wilcoxon : $p < 0.05$). En effet, une augmentation de 204 % (Ea) et 193 % (EaL) a été mesurée pour l'azote, et une augmentation de 35 % et 39 % a été mesurée pour le phosphore.

Un pattern différent a été observé pour les teneurs mesurées dans les extraits d'eau interstitielle (partie C et D, Fig. 3.8) collectés à T_0 et T_f . Que ce soit pour l'azote ou le phosphore, des teneurs identiques ont été mesurées dans les échantillons initiaux et finaux de la condition S (Wilcoxon : $p > 0.05$). Une teneur moyenne de 416.32 mg.L^{-1} (azote) et de 5.05 mg.L^{-1} (phosphore) pour les valeurs initiales, et une concentration moyenne de 464.91 mg.L^{-1} (azote) et 4.98 mg.L^{-1} (phosphore) pour les valeurs finales ont été observées. En présence de vers de terre uniquement (Ea), une augmentation de 143 % pour la teneur en azote (Wilcoxon : $p < 0.01$) et 27 % pour la teneur en phosphore (Wilcoxon : $p < 0.05$) a été observée entre les valeurs initiales et finales. En présence de plantes (L et EaL), alors que les valeurs initiales sont similaires à celles des conditions S et Ea pour l'azote et le phosphore (Wilcoxon : $p > 0.05$), les concentrations diminuent fortement à la fin de l'expérimentation avec des valeurs proches de 0 pour l'azote (L et EaL) (Wilcoxon : $p < 0.001$) et autour de 3.60 mg.L^{-1} pour le phosphore (L et EaL) (Wilcoxon : $p < 0.05$).

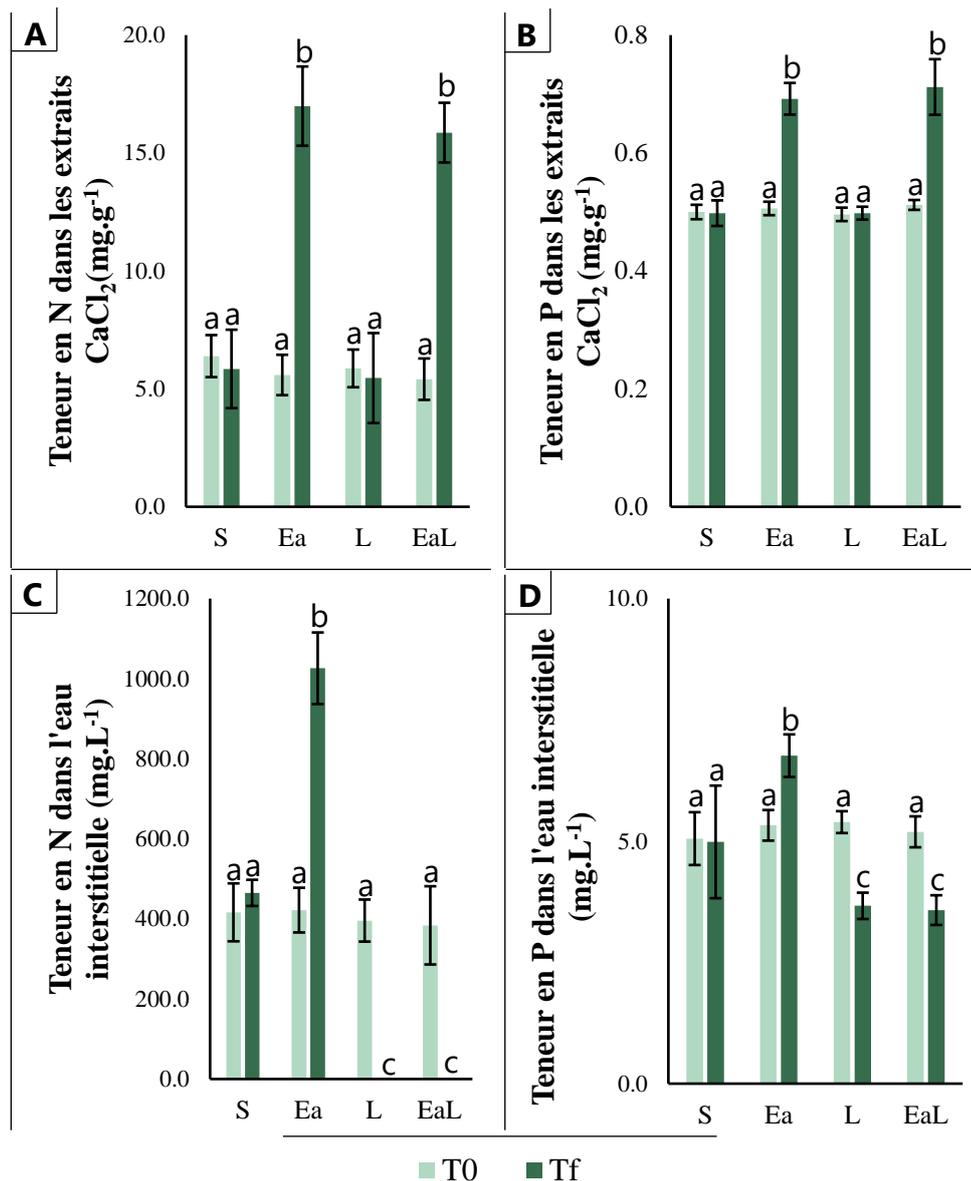


Figure 3.8 : Teneurs en azote (A) et en phosphore (B) dans les extraits CaCl₂, ainsi que les teneurs en azote (C) et en phosphore (D) dans l'eau interstitielle. Les données initiales sont représentées en vert clair (T₀) et les données finales en vert foncé (T_f). Les différences significatives sont indiquées par des lettres différentes (Wilcoxon : p < 0.05) pour chaque partie. n = 5.

ii. Biodisponibilité environnementale des nutriments pour les plantes

La biodisponibilité environnementale du phosphore est estimée à travers trois mesures complémentaires : une extraction DGT sur des échantillons de sol frais, la concentration en phosphore dans les parties aériennes, et enfin la minéralomasse phosphore dans les parties aériennes. La biodisponibilité environnementale de l'azote est estimée à travers la concentration

Les flux impliqués dans l'interaction entre les vers de terre et les plantes dans un contexte contaminé

en azote dans les parties aériennes et la minéralomasse en azote dans les parties aériennes. Ces résultats sont présentés dans le tableau 3.9 et le tableau 3.10.

Tableau 3.9 : Teneurs en phosphore dans les extraits DGT ($\mu\text{g}\cdot\text{échantillonneur}^{-1}$). Les différences significatives (Wilcoxon : $p < 0.05$) entre les valeurs sont représentées par différentes lettres. Les données sont présentées sous la forme valeur moyenne \pm écart-type, $n = 5$.

Condition	Teneur en P dans les extraits DGT ($\mu\text{g}\cdot\text{échantillonneur}^{-1}$)	
	T_0	T_f
S	1.24 \pm 0.03 (a)	1.31 \pm 0.04 (b)
L	1.17 \pm 0.06 (a)	1.31 \pm 0.05 (b)
Ea	1.13 \pm 0.03 (a)	2.11 \pm 0.10 (c)
EaL	1.21 \pm 0.05 (a)	1.86 \pm 0.12 (d)

Au début de l'expérience, aucune différence significative n'a été observée pour la teneur en phosphore dans les échantillons DGT entre les conditions, avec une valeur initiale d'environ 1.20 $\mu\text{g}\cdot\text{échantillonneur}^{-1}$. Après deux mois, une augmentation de la teneur en phosphore extractible par DGT a été observée dans toutes les conditions. Une augmentation similaire a été observée entre les conditions S et L, avec une concentration moyenne de 1.31 $\mu\text{g}\cdot\text{échantillonneur}^{-1}$ (Wilcoxon : $p < 0.05$). En présence de vers de terre, une augmentation significative a été constatée, avec une augmentation de 86 % pour la condition Ea et 53 % pour la condition EaL (Wilcoxon : $p < 0.05$).

Tableau 3.10 : Teneurs et minéralomasse en N et P dans les parties aériennes des plantes. Les différences significatives (Wilcoxon : $p < 0.05$) entre les valeurs sont représentées par différentes lettres pour chaque espèce chimique et chaque mesure. Les données sont présentées sous la forme valeur moyenne \pm écart-type, $n = 5$.

Nutriment	Condition	Concentration ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	Minéralomasse ($\text{mg}\cdot\text{plante}^{-1}$)
N	L	51.20 \pm 0.84 (a)	13.20 \pm 1.86 (a)
	EaL	56.92 \pm 0.38 (b)	21.27 \pm 3.38 (b)
P	L	3.70 \pm 0.31 (a)	0.96 \pm 0.17 (a)
	EaL	4.64 \pm 0.09 (b)	1.73 \pm 0.25 (b)

Une plus grande teneur en azote et en phosphore a été mesurée dans les parties aériennes des plantes en présence de vers de terre (EaL), avec une augmentation de 11 % pour l'azote et de 25 % pour le phosphore par rapport à la teneur en phosphore dans les parties aériennes des

Chapitre 3 : Les interactions vers de terre - plantes dans un sol contaminé

plantes de la condition L (Wilcoxon : $p < 0.05$). Une augmentation de la minéralomasse des parties aériennes est également observée pour l'azote et le phosphore en présence de vers de terre (EaL) (Wilcoxon : $p < 0.05$). En effet, 21.27 mg d'azote par plante et 1.73 mg de phosphore par plante sont mesurés dans les plantes de la condition EaL, contre 13.20 mg d'azote par plante et 0.96 mg de phosphore par plante pour la condition L.

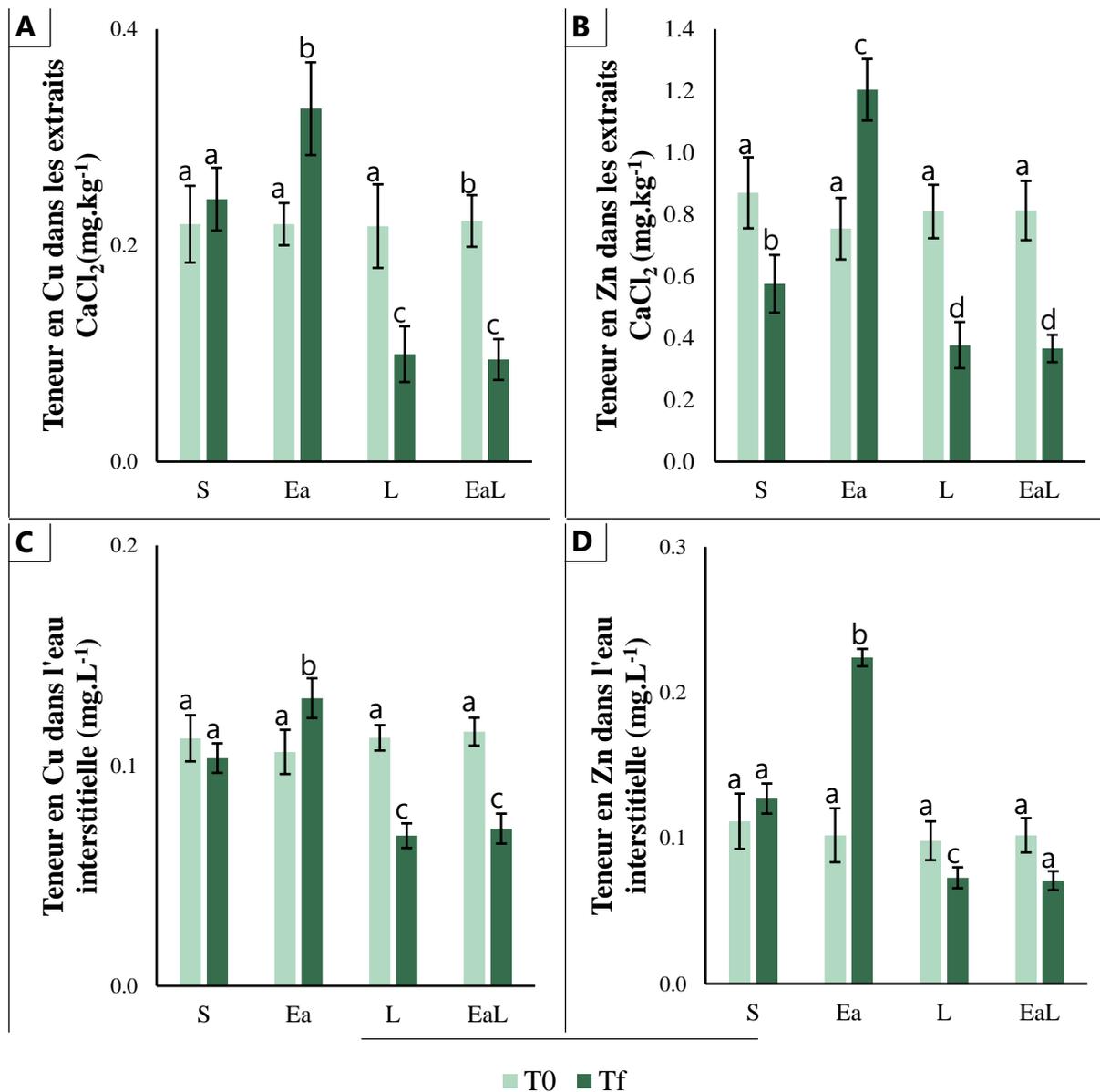


Figure 3.9 : Teneurs en Cu (A) et en Zn (B) dans les extraits CaCl₂, ainsi que les teneurs en Cu (C) et en Zn (D) dans l'eau interstitielle. Les données initiales sont représentées en vert clair (T₀) et les données finales en vert foncé (T_f). Les différences significatives sont indiquées par des lettres différentes (Wilcoxon : $p < 0.05$) pour chaque partie. $n = 5$.

Les modifications des teneurs extractibles en azote et phosphore lors des extractions CaCl_2 suggèrent des modifications de la spéciation des nutriments dans le sol. Ces changements concernant le phosphore sont faiblement corrélés à une modification du pH dans les échantillons, ce qui suggère que ce dernier peut jouer un rôle notamment indirect dans ces changements. Tout d'abord, le pH influence les activités enzymatiques du sol (Herbien & Neal, 1990), dont la phosphatase, qui permet la minéralisation du phosphore organique, le rendant disponible pour les plantes (Richardson & Simpson, 2011). De plus, lorsque le pH est supérieur à 8, la solubilité du phosphate diminue (Neina, 2019). Toutefois, la faible corrélation entre le pH et les changements de biodisponibilité suggère qu'au moins un autre mécanisme existe pour expliquer les changements dans la dynamique du phosphore. Les vers de terre sont notamment connus pour stimuler les activités des microorganismes, notamment dans leurs turricules, ce qui induit notamment une stimulation des activités enzymatiques du sol (Jouni et al., 2023), dont la phosphatase (Dempsey et al., 2013 ; Aira & Dominguez, 2011). Il en va de même pour la minéralisation de l'azote, avec une augmentation du taux de nitrification, notamment en présence de vers de terre endogés, tels que *A. caliginosa* (Xue et al., 2022).

En ce qui concerne l'eau interstitielle, des comportements différents ont été observés. Tout d'abord, il faut noter que ce compartiment est dynamique (Di Bonito et al., 2018), c'est-à-dire qu'il est d'une part rechargé en permanence par les phases solide et gazeuse du sol, mais également par les organismes édaphiques et les exsudats racinaires (Lindsay, 1979 ; Mattigod et al., 1981). D'autre part, les éléments dissous peuvent notamment être retirés de la solution par les racines des plantes et les organismes en contact avec cette solution (Wan et al., 2018). La concentration mesurée dans la solution est donc l'équilibre de deux facteurs : la capacité d'un élément à se déplacer vers la solution du sol et la capacité des autres compartiments à prélever l'élément de la solution. En présence de vers de terre, nous observons que ces derniers facilitent le passage des nutriments vers la phase liquide du sol. Dans le cas des plantes, deux hypothèses peuvent être appliquées : 1/ la modification des propriétés du sol supprime la capacité des éléments à se déplacer vers la solution du sol 2/ la plante absorbe rapidement les éléments disponibles dans la solution du sol (Wan et al., 2018). L'absence de corrélation entre les éléments

nutritifs dans l'eau interstitielle et le CaCl_2 semble résulter de l'absorption des éléments nutritifs et en particulier de l'azote, dont la teneur dans l'eau interstitielle est proche de 0.

3.2.3 Effet des plantes et des vers de terre sur les flux d'éléments traces métalliques

i. Disponibilité environnementale des éléments traces métalliques

Les teneurs en Cu, Zn et Cd ont été mesurées dans les extraits CaCl_2 du sol ainsi que dans l'eau interstitielle du sol. Comme les teneurs en Cd dans les extraits CaCl_2 et l'eau interstitielle étaient sous la limite de quantification ($4.7 \mu\text{g.L}^{-1}$) pour de nombreux échantillons, les résultats ne pourront pas être exploités. Les résultats concernant le Cu et le Zn sont présentés sur la Figure 3.9.

Les valeurs initiales des concentrations en Zn et Cu dans les extraits de CaCl_2 ne présentent aucune différence significative (Wilcoxon : $p < 0.05$) entre les différentes conditions. On retrouve ainsi une teneur moyenne de 0.22 mg.kg^{-1} pour le Cu et pour le Zn une teneur moyenne comprise entre 0.75 et 0.87 mg.kg^{-1} . En présence de plantes (L, EaL), les concentrations en Cu dans les échantillons CaCl_2 sont divisées par deux entre le début et la fin de l'incubation (Wilcoxon : $p < 0.01$). En revanche, en présence de vers de terre uniquement (Ea), la teneur en Cu dans les extraits CaCl_2 a augmenté de 50 % (Wilcoxon : $p < 0.05$) passant de 0.22 mg.kg^{-1} à 0.33 mg.kg^{-1} entre le début et la fin de l'incubation. Concernant le Zn, une réduction de 33 % (Wilcoxon : $p < 0.05$) a été observée entre la teneur moyenne mesurée au début et à la fin de l'expérimentation dans les extraits CaCl_2 . En présence de plantes (L, EaL), une réduction plus importante que celle observée dans la condition S a été mesurée avec une baisse d'environ 50 % (Wilcoxon : $p < 0.05$). En présence de vers de terre, une augmentation de 60 % est observée entre les teneurs mesurées au début de l'expérimentation et celles après deux mois d'incubation (Wilcoxon : $p < 0.05$).

Au début de l'expérience, aucune différence n'a été observée entre les conditions (Wilcoxon : $p > 0.05$) en ce qui concerne les concentrations de Cu et Zn dans l'eau interstitielle. Concernant le Cu, les valeurs initiales s'échelonnent entre 0.11 et 0.12 mg.L^{-1} . Après deux mois, des changements dans les concentrations de Cu ont été observés en présence de plantes ou de vers de terre. En effet, une augmentation de la teneur en Cu dans l'eau interstitielle de 18 % (Wilcoxon : $p < 0.05$) a été observée dans la condition Ea, tandis qu'en présence de plantes (L et EaL), une

diminution du même ordre de grandeur a été observée avec une baisse moyenne d'environ 40 % par rapport aux valeurs initiales pour les deux conditions. Concernant le Zn, une concentration moyenne de 0.11 mg.L^{-1} a été observée dans les échantillons initiaux des quatre conditions (S, Ea, L, EaL) (Wilcoxon : $p > 0.05$). Après deux mois d'incubation, on observe une réduction de 36 % des teneurs en Zn retrouvées dans l'eau interstitielle en présence de plantes (L et EaL) (Wilcoxon : $p < 0.05$). En présence de vers de terre uniquement (Ea), une augmentation d'un facteur 2 jusqu'à 0.22 mg.L^{-1} a été observée (Wilcoxon : $p < 0.05$).

ii. Biodisponibilité environnementale des éléments traces métalliques

La biodisponibilité des ET (Cu, Zn et Cd) a été estimée à travers trois mesures : une extraction DGT sur des échantillons de sols frais, la concentration en ET dans les parties aériennes, et enfin la minéralomasse en ET dans les parties aériennes.

Tout d'abord, les teneurs initiales (T_0) mesurées via un dispositif de DGT montrent des concentrations identiques entre les conditions (Wilcoxon : $p > 0.05$) avec des valeurs autour de $0.30 \text{ } \mu\text{g.échantillonneur}^{-1}$ pour le Cu, $1.56 \text{ } \mu\text{g.échantillonneur}^{-1}$ pour le Zn, et $0.12 \text{ } \mu\text{g.échantillonneur}^{-1}$ pour le Cd.

Après deux mois d'incubation, une augmentation des teneurs en Cu est observée en présence de vers de terre (Ea) avec une valeur moyenne de $0.47 \text{ } \mu\text{g.échantillonneur}^{-1}$ (Wilcoxon : $p < 0.05$). Pour la condition contrôle (S) ainsi que les conditions en présence de plantes (L et EaL), aucun changement dans les concentrations extraites par rapport aux valeurs initiales n'a été observé (Wilcoxon : $p > 0.05$).

Concernant le Zn et Cd, un autre schéma est observé. Pour la condition contrôle (S), aucune modification de l'extractibilité du Zn et du Cd n'est observée (Wilcoxon : $p > 0.05$). En revanche, en présence de vers de terre, une augmentation des teneurs extractibles est observée, avec une augmentation de 215 % pour le Zn et de 75 % pour le Cd. Enfin, en présence de plantes (L et EaL), une diminution des teneurs extractibles pour le Zn et Cd est observée, avec une baisse de 29 % (L et EaL) pour le Zn et de 42 % pour la condition L, ainsi que de 54 % pour la condition EaL concernant le Cd.

Chapitre 3 : Les interactions vers de terre - plantes dans un sol contaminé

La concentration interne en ET (Cu, Zn, Cd) dans la partie aérienne des plantes a été déterminée après deux mois de croissance. Tout d'abord, si l'on compare aux plantes cultivées sur le substrat non contaminé (NC) (EXP A : Tab 3.3), les concentrations de Zn et Cd mesurées sont toujours plus élevées pour les plantes cultivées sur un sol contaminé, quelle que soit la condition (L, EaL) (Wilcoxon : $p < 0.05$). Pour le Cu, la même concentration que dans les plantes NC est observée (Wilcoxon : $p > 0.05$), soit environ 15-16 mg.kg^{-1} de Cu.

Tableau 3.11 : Teneurs en Cu, Zn et Cd dans les extraits DGT ($\mu\text{g.échantillonneur}^{-1}$), ainsi que les teneurs et les minéralomasses en Cu, Zn et Cd dans les parties aériennes des plantes. Les différences significatives (Wilcoxon : $p < 0.05$) entre les valeurs sont représentées par différentes lettres pour chaque espèce chimique et chaque mesure. Les données sont présentées sous la forme valeur moyenne \pm écart-type, $n = 5$.

Élément	Condition	DGT ($\mu\text{g.échantillonneur}^{-1}$)		Partie aérienne des plantes	
		T_0	T_f	Concentration ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	Minéralomasse ($\mu\text{g.plante}^{-1}$)
Cu	S	0.27 \pm 0.04 (a)	0.31 \pm 0.03 (a)		
	Ea	0.32 \pm 0.02 (a)	0.47 \pm 0.04 (b)		
	L	0.32 \pm 0.04 (a)	0.32 \pm 0.03 (a)	15.32 \pm 2.66 (a)	3.96 \pm 0.91 (a)
	EaL	0.30 \pm 0.04 (a)	0.32 \pm 0.05 (a)	19.01 \pm 2.88 (a)	7.16 \pm 1.94 (b)
Zn	S	1.59 \pm 0.08 (a)	1.92 \pm 0.25 (a)		
	Ea	1.54 \pm 0.17 (a)	4.86 \pm 0.28 (b)		
	L	1.51 \pm 0.19 (a)	1.07 \pm 0.16 (c)	164.53 \pm 3.16 (a)	42.38 \pm 5.72 (a)
	EaL	1.59 \pm 0.15 (a)	1.13 \pm 0.17 (c)	143.48 \pm 10.58 (b)	53.35 \pm 6.88 (a)
Cd	S	0.13 \pm 0.02 (a)	0.12 \pm 0.02 (a)		
	Ea	0.12 \pm 0.02 (a)	0.21 \pm 0.01 (b)		
	L	0.12 \pm 0.02 (a)	0.07 \pm 0.01 (c)	0.95 \pm 0.25 (a)	0.24 \pm 0.06 (a)
	EaL	0.13 \pm 0.02 (a)	0.06 \pm 0.01 (c)	1.15 \pm 0.24 (a)	0.42 \pm 0.06 (b)

La présence de vers de terre (EaL) induit une réduction de 15 % de la teneur interne en Zn dans les parties aériennes des plantes par rapport aux teneurs mesurées pour la condition L (Wilcoxon : $p < 0.05$). En revanche, la présence de vers de terre n'affecte pas les teneurs en Cu et Cd mesurées dans les parties aériennes des plantes (Wilcoxon : $p > 0.05$) par rapport à celles mesurées dans la condition L.

Concernant la minéralomasse, un schéma inverse est observé. En effet, la présence de vers de terre induit une augmentation de la quantité totale de Cu et Cd stockée dans la partie aérienne (t-test : $p < 0.05$). Alors que 3.96 μg par plante de Cu et 0.24 μg par plante de Cd sont stockés dans les parties aériennes pour la condition L, 7.16 μg par plante de Cu et 0.42 μg par plante de Cd sont stockés dans les parties aériennes des plantes de la condition EaL. En revanche, la même quantité de Zn est mesurée entre les plantes de la condition L et celles de la condition EaL (t-test : $p > 0.05$).

3.2.4 Relation entre les paramètres physico-chimiques du sol et la biodisponibilité des éléments

Les corrélations entre les paramètres physico-chimiques du sol, la disponibilité environnementale des éléments, et la biodisponibilité environnementale ont été calculées et sont présentées dans le tableau 3.12.

Tout d'abord, en ce qui concerne les nutriments, la teneur en azote dans l'eau interstitielle est fortement corrélée négativement à la teneur en azote dans la partie aérienne des plantes ($r = -0.90$, $p < 0.05$). Une faible corrélation entre la teneur en azote dans les extraits CaCl_2 et la teneur en azote dans l'eau interstitielle est également calculée ($r = 0.31$, $p < 0.05$). Les concentrations en phosphore dans les extraits CaCl_2 , l'eau interstitielle, et dans les extractions DGT sont négativement corrélées au pH du sol ainsi qu'au pH de l'eau interstitielle, avec respectivement un coefficient de corrélation de -0.33, -0.38 et -0.37 pour les corrélations avec le pH du sol, et de -0.26, -0.29 et -0.43 pour les corrélations avec le pH de l'eau interstitielle. Les teneurs en phosphore dans les extraits DGT sont positivement corrélées avec la teneur en carbone organique dissous ($r = 0.35$, $p < 0.05$). Les teneurs dans les extraits DGT sont également fortement corrélées aux teneurs

Chapitre 3 : Les interactions vers de terre - plantes dans un sol contaminé

observées dans les extraits CaCl_2 ($r = 0.89$, $p < 0.05$), ainsi que les teneurs dans les parties aériennes des plantes ($r = 0.98$, $p < 0.05$).

En ce qui concerne les ET, les indicateurs Zn et Cd (CaCl_2 , eau interstitielle et DGT) sont toujours négativement corrélés avec le pH de l'eau interstitielle avec des coefficients de corrélation compris entre -0.90 et -0.96. De plus, les teneurs en Zn dans les extraits CaCl_2 et dans l'eau interstitielle sont également corrélées avec la teneur en carbone organique dissous dans l'eau interstitielle. La teneur mesurée dans les plantes est quant à elle négativement corrélée aux teneurs dans les extraits CaCl_2 , ainsi que les teneurs dans l'eau interstitielle du sol. En revanche, elle est fortement corrélée à la teneur dans les extraits DGT ($r = 0.77$, $p < 0.05$). Enfin, concernant le Cu, les différentes teneurs dans l'eau interstitielle, les extraits CaCl_2 et DGT, sont corrélées avec la teneur en carbone organique dissous dans l'eau interstitielle du sol. La teneur interne dans les plantes est également négativement corrélée aux concentrations dans les extraits CaCl_2 et dans l'eau interstitielle, et positivement aux teneurs dans les extraits DGT.

Au regard des deux indicateurs de disponibilité environnementale des ET (teneurs dans les extraits CaCl_2 et l'eau interstitielle), on retrouve que le pH est le principal facteur explicatif de la mobilité du Zn et du Cd. La corrélation négative entre ces deux paramètres a déjà été bien documentée (Sauvé et al., 2000). Cependant, dans certains cas, la présence de vers de terre induit une augmentation du pH et, malgré cette alcalinisation du sol, une augmentation de la mobilité des ET a tout de même été observée, suggérant l'existence de mécanismes supplémentaires (Sizmur et al., 2009).

Tableau 3.12 : Coefficient de corrélation de Pearson entre les caractéristiques du sol, de l'eau interstitielle du sol, la mobilité des ET et des nutriments, ainsi que la concentration interne dans les plantes. Les valeurs ne sont indiquées que si le coefficient de corrélation est significatif ($p < 0.05$), sinon n.s. est indiqué. n.m. indique des données et/ou une corrélation non mesurée.

Element	Mesure	Paramètre du sol		Paramètres de l' eau interstitielle		Disponibilité environnementale		Biodisponibilité environnementale
		pH		pH	Carbone organique dissous	Eau interstitielle	DGT	
N	CaCl ₂	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0.31	n.m.	n.s.
	Eau interstitielle	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-	n.m.	-0.90
P	CaCl ₂	-0.33	-0.26	n.s.	n.s.	n.s.	0.89	n.s.
	Eau interstitielle	-0.38	-0.29	n.s.	n.s.	-	n.s.	n.s.
	DGT	-0.37	-0.43	0.35	-	-	-	0.98
Zn	CaCl ₂	-0.90	-0.91	0.20	0.32	0.96	0.92	-0.82
	Eau interstitielle	-0.93	-0.96	0.32	0.32	-	0.92	-0.88
	DGT	-0.90	-0.91	n.s.	n.s.	-	-	0.77
Cd	DGT	-0.93	-0.94	n.s.	n.s.	n.m.	-	0.86
	CaCl ₂	n.s.	n.s.	0.95	0.95	0.92	-0.70	-0.88
Cu	Eau interstitielle	n.s.	n.s.	0.92	0.92	-	-0.75	-0.87
	DGT	n.s.	n.s.	-0.82	-0.82	-	-	0.67

Chapitre 3 : Les interactions vers de terre - plantes dans un sol contaminé

On retrouve aussi que la teneur en carbone organique dissous est le principal paramètre influençant la mobilité du Cu et un paramètre secondaire dans la mobilité du Zn. Cette forte relation entre le Cu et le carbone organique dissous a déjà été bien documentée (McBride et al., 2005) avec une augmentation de la teneur en Cu dans l'extrait d'eau interstitielle ou de CaCl₂ lorsque la teneur en carbone organique dissous augmente. La corrélation positive entre le carbone organique dissous et le Zn pourrait être expliquée par la formation d'un complexe organo-métallique avec le mucus des annélides, ce qui est l'un des mécanismes possibles pour expliquer l'augmentation de la mobilité des ET lorsque les vers de terre augmentent le pH du sol (Sizmur & Hodson, 2009).

En ce qui concerne l'absorption et l'accumulation des ET dans les organismes étudiés, aucune toxicité aiguë n'a été observée pour tous les annélides, ce qui est confirmé par le taux de survie élevé des vers de terre (92-100 %) et l'absence de mort des plantes ou de nécrose des feuilles.

Les vers de terre sont exposés à la contamination par deux voies principales : une exposition cutanée et une exposition intestinale par ingestion de sol. Les teneurs en Zn et Cd dans les annélides étant négativement corrélées avec les indicateurs de mobilité et l'extraction DGT, ce résultat suggère que la principale voie d'exposition est la voie intestinale (Kitturmath et al., 2010 ; Vijver et al., 2003). De plus, en l'absence de plantes, les teneurs en Zn et Cd dans les corps des vers de terre étaient du même ordre que pour les vers de terre issus de notre élevage (partie 3.1), ce qui indique une absorption plus faible ou une élimination plus rapide du Zn et du Cd, comme cela a déjà été rapporté (Vijver et al., 2005). En outre, pour le Cu, il n'y avait pas de corrélation entre la mobilité / les extraits DGT et la teneur en Cu dans les corps des vers. La teneur en Cu dans les corps des vers de terre était toujours plus élevée que pour ceux issus de notre élevage (3.1), ce qui indique une accumulation de Cu dans les vers exposés à un sol contaminé.

Les teneurs en Cd et en Zn sont respectivement de deux fois et trois fois supérieures à celles données comme fond naturel de référence pour les plantes non contaminées (Chaney, 2010 ; Harada & Hatanaka, 1998). L'équation 3.1 donnée ci-dessous montre également un effet négatif du Cd sur la croissance des plantes, suggérant l'existence d'effets sublétaux.

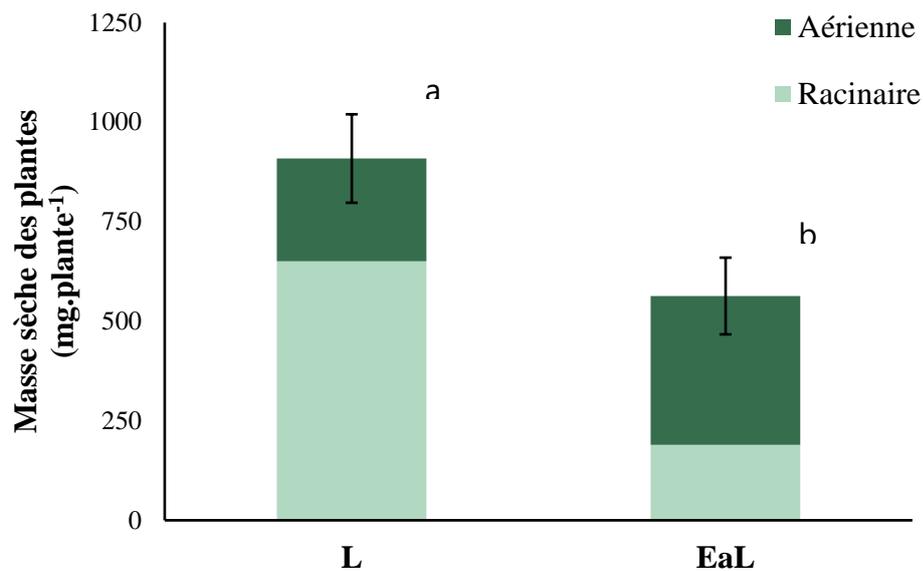


Figure 3.10 : Poids sec aérien (vert foncé) et souterrain (vert clair) par plante (mg.plante^{-1}) cultivée en présence de vers de terre (EaL) ou en leur absence (L). Les différences significatives sont indiquées par des lettres différentes (Wilcoxon : $p < 0.05$) pour chaque partie. $n = 5$.

3.2.5 Effet des annélides sur la croissance des plantes

Le poids moyen total par plante (Fig. 3.10) des plantes témoins (L) est plus élevé que celui mesuré en présence de vers de terre (EaL), avec une diminution de 38 % en présence de vers de terre ($p < 0.05$). Une réduction de 70 % du poids de la partie souterraine est observée en présence de vers de terre par rapport à celui de la condition L. En revanche, en présence de vers de terre (EaL), on constate une augmentation de 44 % du poids de la partie aérienne par rapport aux résultats obtenus pour la condition L.

3.2.6 Relation entre la croissance des plantes et les flux d'éléments

Le poids de la partie aérienne des plantes est influencé par trois éléments : l'azote, le phosphore et le cadmium, ainsi que par la biomasse totale des vers de terre présents dans les cosmes (Eq. 3.1). Une augmentation des teneurs extractibles d'azote et de phosphore par une solution de CaCl_2 explique une augmentation de la biomasse aérienne des plantes, avec un facteur de 0.33 pour l'azote ($p < 0.001$) et de 7.91 pour le phosphore ($p < 0.01$). De plus, une augmentation de la teneur extractible en phosphore par une extraction DGT est positivement

Chapitre 3 : Les interactions vers de terre - plantes dans un sol contaminé

corrélée à une augmentation de la masse aérienne des plantes, avec un facteur de 2.11 ($p < 0.001$). En revanche, une relation négative est observée entre la masse aérienne des plantes et la teneur extractible en cadmium par DGT, avec un facteur de -132 ($p < 0.05$). Enfin, une relation positive est constatée entre la biomasse totale des vers de terre et la masse aérienne des plantes, avec un facteur de 0.08 ($p < 0.05$).

Poids_{partie aérienne}

$$\begin{aligned} &= 0.33 \times N_{CaCl_2} + 7.91 \times P_{CaCl_2} + 2.11 \times P_{DGT} - 132 \times Cd_{DGT} \\ &+ 0.08 \times Biomasse_{vers\ de\ terre} + 5.86 \end{aligned}$$

Eq 3.1 : Régression linéaire du poids de la partie aérienne des plantes en fonction des différents indicateurs de biodisponibilité des éléments, ainsi que de la biomasse totale en vers de terre dans les cosmes. Seules les valeurs significatives ($p < 0.05$) sont conservées dans l'équation. $R^2 = 0.89$

Enfin, en ce qui concerne la biodisponibilité environnementale des nutriments, c'est-à-dire le contenu interne dans le système aérien des plantes, une augmentation a été observée en présence de vers de terre. Cette augmentation se traduit également par une augmentation de la minéralomasse des plantes. Il s'agit d'un des mécanismes couramment présentés dans la littérature pour expliquer l'effet des vers de terre sur la croissance des plantes (Blouin et al., 2013 ; Brown et al., 2004). En effet, l'azote et le phosphore sont souvent les deux nutriments limitants dans le sol. L'augmentation de leur biodisponibilité lève donc un verrou pour l'augmentation de la croissance des plantes (van Groenigen et al., 2014). Toutefois, cette augmentation des flux nutritifs vers la plante n'est que l'un des facteurs expliquant l'augmentation de la biomasse aérienne en présence de vers de terre (Eq. 3.1). En effet, l'existence d'un facteur dépendant de la biomasse des vers terre suggère l'existence d'au moins un autre mécanisme, qui pourrait être l'un de ceux évoqué par Brown et al., 2004 : 1/ la régulation des pathogènes, 2/ la stimulation des microorganismes du sol, 3/ la production de facteurs de croissance pour les plantes, et 4/ l'amélioration de la structure du sol.

3.3 CONCLUSION PARTIELLE

Malgré la contamination, une interaction ver de terre – plante existe toujours. De plus, les mécanismes qui sous-tendent cette interaction sont les mêmes que ceux observés dans les sols non contaminés, à savoir une augmentation de la biodisponibilité des nutriments pour les plantes. Toutefois, les mécanismes qui régulent cette biodisponibilité n'ont pu être identifiés lors de ce travail. D'après les connaissances bibliographiques, le rôle des communautés microbiennes dans la régulation du cycle des nutriments pourrait être un facteur clé à étudier lors de prochaines recherches.

Le contexte de contamination induit également des flux d'ET. Ces flux sont principalement régulés par les facteurs physico-chimiques du sol, à savoir le pH et la teneur en carbone organique dissous. Alors que les vers de terre tendent à augmenter ces flux, la plante possède quant à elle la capacité de les réduire. Lorsque ces organismes sont en interaction, c'est la plante qui imprime son empreinte sur le système, induisant une réduction globale des flux d'ET. En revanche, la présence d'ET semble tout de même induire des effets sublétaux sur les organismes sans conséquence sur une courte durée.

Dans le chapitre suivant, nous étudierons cette interaction ver de terre – plante sur un temps plus long en exploitant les résultats issus d'un élevage de vers de terre en présence ou absence de plantes sur plusieurs générations. Nous étudierons alors également l'impact de ces générations successives de vers de terre sur la croissance des plantes.

4. CHAPITRE 4 : MAINTIEN DE L'INTERACTION ENTRE LES VERS DE TERRE ET LES PLANTES SUR UNE LONGUE PERIODE DE TEMPS

Dans ce chapitre, nous allons nous intéresser aux interactions entre les vers de terre et les plantes sur le long terme à travers l'expérience d'élevage (Expérience C, chapitre 2). Cette expérience vise à répondre aux questions suivantes (Fig. 4.0) : Existe-t-il une temporalité et une spatialisation de cette interaction dans le sol (Q4) ? Existe une rétroaction par la plante sur cette interaction (Q5) ? Ce chapitre est divisé en deux parties : la première partie (4.1) consiste à vérifier l'hypothèse d'un effet bénéfique des plantes sur le développement des vers de terre. Pour cela, nous allons étudier des indicateurs de croissance des individus ainsi que des indicateurs de reproduction. La seconde partie (4.2) vise à vérifier l'hypothèse du maintien de l'effet positif des vers de terre sur le long terme. Cela signifie 1/ la capacité d'un ver de terre à augmenter la croissance des plantes tout au long de sa vie malgré une exposition à la contamination et 2/ la capacité de différentes générations successives à maintenir cette amélioration de la croissance des plantes malgré la contamination.

Ce chapitre exploite les résultats de l'expérience C. Il s'agit du suivi d'un élevage de vers de terre sur trois générations, soit en sol contaminé (CHV) soit en sol non contaminé (CLX) avec ou sans la présence de plantes. Tous les 28 jours, les cosmes d'élevage sont renouvelés et des mesures sont effectuées sur les vers de terre, les plantes et le sol.

4.1 EFFET DES PLANTES SUR LE DEVELOPPEMENT DES VERS DE TERRE EXPOSES OU NON A LA CONTAMINATION SUR TROIS GENERATIONS.

4.1.1 Influence de la présence de plantes et de la contamination sur le développement des vers de terre.

i. Résultats : Longévité des vers de terre.

La longévité des vers de terre a été étudiée en examinant les taux de survie lors des changements de cosmes. Un cycle de vie complet n'a été observé que pour la première

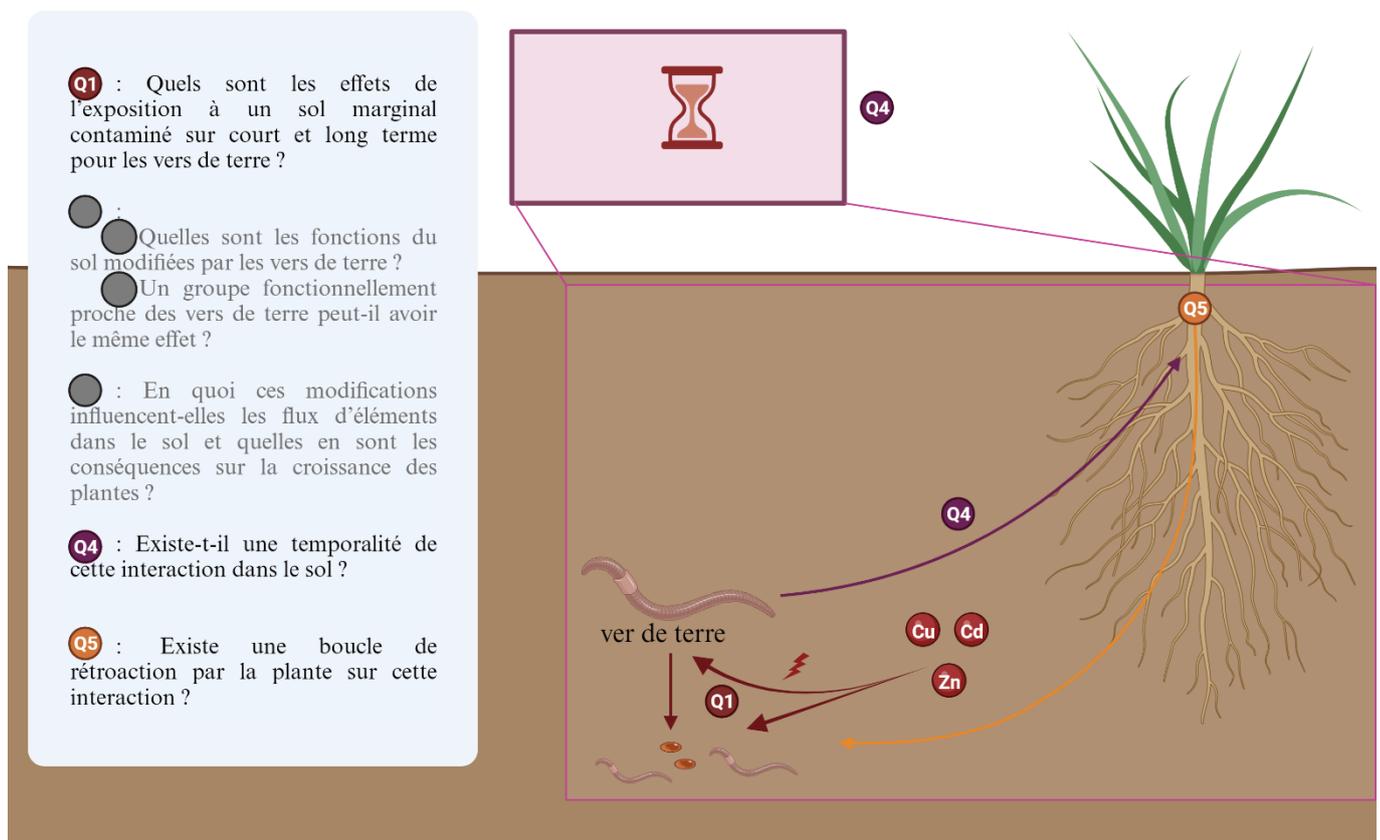


Figure 4.0 : Schéma conceptuel des questions du chapitre 4

Chapitre 4 : Maintien de l'interaction entre les vers de terre et les plantes sur une longue période de temps

génération. En ce qui concerne la deuxième et la troisième génération, seules des observations partielles ont pu être effectuées, en raison de la fin de l'expérience, établie deux mois après que chaque ver de terre de la troisième génération ait atteint sa maturité.

Pour déterminer les moments où 33 % des vers de terre décèdent dans chaque cosme ($T_{33\%}$), 66 % succombent ($T_{66\%}$), et 100 % décèdent ($T_{100\%}$), nous nous baserons exclusivement sur les conditions 3-Ea (3 vers de terre par cosme). Ces données seront présentées dans le tableau 4.1 pour les deux premières générations. Le temps d'incubation de la troisième génération (224 jours) n'a pas été suffisamment long pour entraîner une mortalité significative dans les cosmes, il ne sera donc pas pris en considération.

Tableau 4.1 : Temps moyen avant que 33 % de mortalité ($T_{33\%}$, un ver de terre par cosme décède), 66 % de mortalité ($T_{66\%}$, deux vers de terre par cosme décèdent) et 100 % de mortalité ($T_{100\%}$, trois vers de terre par cosme décèdent) soient atteints pour différentes conditions 3-Ea (trois vers de terre par cosme). La condition 3-Ea CLX se rapporte à la présence de trois vers de terre par cosme dans le sol CLX (NC) en l'absence de plantes. La condition 3-EaL CLX correspond à la présence de trois vers de terre par cosme dans le sol CLX (NC) en présence de plantes. La condition 3-Ea CHV correspond à la présence de trois vers de terre par cosme dans le sol CHV en l'absence de plantes. La condition 3-EaL CHV correspond à la présence de trois vers de terre par cosme dans le sol CHV en présence de plantes. Les valeurs sont présentées sous la forme valeur moyenne \pm écart-type, $3 \leq n \leq 5$. Les différences significatives entre les différentes conditions pour chaque génération sont indiquées par des lettres distinctes (Wilcoxon : $p < 0.05$). Les cellules grises indiquent que les valeurs n'ont pas été calculées en raison d'une mortalité trop faible dans ces conditions.

Génération	Condition	$T_{33\%}$ (jours)	$T_{66\%}$ (jours)	$T_{100\%}$ (jours)
1	3-Ea CLX	336 \pm 69 (a)	471 \pm 53 (a)	504 \pm 62 (a)
	3-EaL CLX	302 \pm 37 (a)	476 \pm 69 (a)	594 \pm 37 (b)
	3-Ea CHV	258 \pm 67 (ab)	314 \pm 23 (b)	382 \pm 46 (c)
	3-EaL CHV	286 \pm 61 (ab)	398 \pm 37 (c)	442 \pm 57 (d)
2	3-Ea CLX	353 \pm 78 (a)		
	3-EaL CLX	314 \pm 92 (a)		
	3-Ea CHV	218 \pm 37 (b)	336 \pm 20 (b)	391 \pm 25 (c)
	3-EaL CHV	230 \pm 32 (b)	392 \pm 40 (c)	

Tout d'abord, aucun effet générationnel n'a été observé pour l'ensemble des conditions au cours des deux premières générations (Wilcoxon : $p > 0.05$).

Lors de la première génération, aucune différence significative n'a été constatée entre les quatre conditions (3-Ea CLX, 3-EaL CLX, 3-Ea CHV, 3-EaL CHV) en ce qui concerne la mesure $T_{33\%}$, avec un temps moyen d'incubation compris entre 258 et 336 jours (Wilcoxon : $p > 0.05$). Cependant, un $T_{33\%}$ plus court d'environ 100 jours a été observé dans les conditions de sol contaminé (3-Ea CHV et 3-EaL CHV) par rapport aux conditions non contaminées (3-Ea CLX et 3-EaL CLX).

Un $T_{66\%}$ plus court a été calculé pour les cosmes contenant un sol contaminé (CHV) par rapport à ceux contenant un sol non contaminé (CLX) (Wilcoxon : $p < 0.05$). Dans les conditions contaminées, une augmentation du $T_{66\%}$ a été notée en présence de plantes (Wilcoxon : $p < 0.05$) pour les deux générations. Aucune différence significative n'a été observée entre les conditions 3-Ea CLX et 3-EaL CLX, avec un $T_{66\%}$ de 471 et 476 jours respectivement (Wilcoxon : $p > 0.05$).

Un $T_{100\%}$ plus long a été calculé pour les conditions non contaminées par rapport aux conditions contaminées. La présence de plantes a également été associée à une augmentation du $T_{100\%}$ de 90 jours dans le sol non contaminé (CLX) et de 60 jours dans le sol contaminé (CHV).

En ce qui concerne les valeurs du $T_{66\%}$ et du $T_{100\%}$ pour les conditions 3-Ea CLX et 3-EaL CLX, ces données n'ont pas pu être calculées en raison d'un nombre trop faible d'individus décédés, indiquant des valeurs proches ou supérieures au temps d'incubation de la seconde génération (476 jours). Il en va de même pour le $T_{100\%}$ de la condition 3-EaL CHV.

ii. Résultat : Développement des vers de terre.

Le poids des vers de terre a été mesuré lors de chaque changement de cosme, et les résultats sont présentés dans la Figure 4.1. Dans le sol CLX, jusqu'au jour 84 pour la première génération (Fig. 4.1.A) et au jour 56 pour la seconde et troisième génération (Fig. 4.1.C et Fig. 4.1.E), aucune différence significative n'a été observée entre les quatre conditions de leur génération respective (ANOVA : $p > 0,05$). Après ces dates, des valeurs plus élevées ont été mesurées dans les conditions 1-Ea CLX et 1-EaL CLX (Tukey-HSD : $p < 0,05$) par rapport aux conditions 3-Ea CLX et 3-EaL CLX.

Chapitre 4 : Maintien de l'interaction entre les vers de terre et les plantes sur une longue période de temps

Ainsi, pour les conditions 1-Ea CLX et 1-EaL CLX, le poids des vers de terre a continué à augmenter jusqu'au jour 196 pour la première génération et jusqu'au jour 112 pour la deuxième et la troisième génération. Dans la première génération, le poids des vers de terre a atteint des valeurs proches de 2 000 mg par individu, suivi d'une diminution et d'une stabilisation autour de 1 500 à 1 600 mg par individu. Dans la deuxième et troisième génération, une augmentation et une stabilisation autour de 1 500 à 1 700 mg par individu ont été observées. Pour les conditions 3-Ea et 3-EaL, le poids des vers de terre s'est stabilisé autour de 650 mg par individu pour les trois générations (ANOVA : $p > 0.05$). Pour la même génération et la même densité de vers de terre, aucune différence significative n'a été observée entre les conditions avec ou sans plantes après la stabilisation du poids des vers de terre (ANOVA : $p < 0.05$).

Concernant le sol contaminé CHV, le poids des vers de terre était toujours inférieur au poids des vers de terre mesuré dans le sol non contaminé CLX pour toutes les conditions et générations. Contrairement à ce qui a été observé dans le sol non contaminé CLX, la densité de vers de terre n'a pas eu d'effet sur le poids moyen des individus dans le sol contaminé, en revanche, la présence ou l'absence de plantes a affecté le poids des vers. En effet, après le jour 56 pour la première génération et après le jour 28 pour la deuxième et la troisième génération, le poids des vers de terre des conditions EaL a toujours été supérieur au poids des vers de terre des conditions Ea (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Comme pour le sol CLX, l'évolution du poids des vers de terre dans le sol CHV commence par une phase d'augmentation, suivie d'une phase de stabilisation. Après la stabilisation, une diminution a été observée à travers les générations, avec des valeurs diminuant de 500 à 600 mg par individu à des valeurs autour de 450 mg par individu pour les différentes conditions EaL, et de 490 à 430 mg par individu à 360 à 330 mg par individu pour les conditions 1-Ea, et à 290 à 280 mg par individu pour les conditions 3-Ea.

Effet des plantes sur le développement des vers de terre exposés ou non à la contamination sur trois générations.

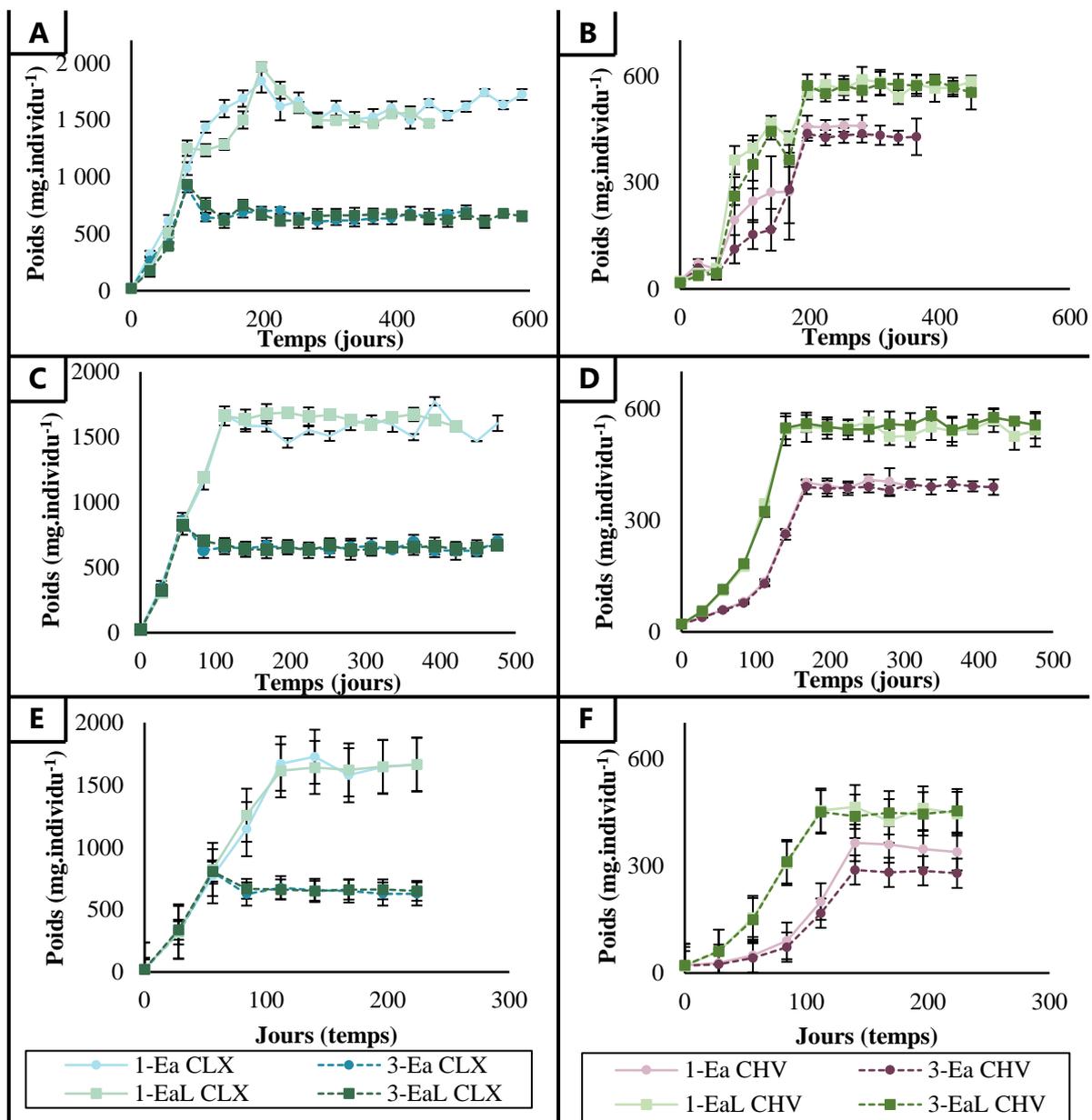


Figure 4.1 : Poids des vers de terre (mg.individu^{-1}) mesuré lors de chaque changement de cosse, tous les 28 jours.
 A : Première génération élevée dans le sol non contaminé CLX. B : Première génération élevée dans le sol contaminé CHV.
 C : Deuxième génération élevée dans le sol non contaminé CLX. D : Deuxième génération élevée dans le sol contaminé CHV.
 E : Troisième génération élevée dans le sol non contaminé CLX. F : Troisième génération élevée dans le sol contaminé CHV.
 $3 \leq n \leq 5$.

iii. Résultats : Maturité des vers de terre.

Lors de chaque changement de cosme, les vers de terre survivants ont été examinés, et la présence ou l'absence du clitelum a été utilisée comme indicateur de leur maturité. Les résultats sont présentés dans la Figure 4.2.

Chapitre 4 : Maintien de l'interaction entre les vers de terre et les plantes sur une longue période de temps

Tout d'abord, dans le sol non contaminé (CLX), un passage au stade mature quasi synchrone a été observé pour toutes les conditions et générations (Tukey-HSD : $p > 0.05$). Ce passage s'est déroulé entre le jour 28 et le jour 84.

En revanche, dans le sol contaminé (CHV), un retard avant le passage à maturité a été observé pour toutes les conditions par rapport aux conditions non contaminées (CLX) (Wilcoxon : $p < 0.01$). Au cours de la première génération, aucune différence n'a été constatée entre les conditions (Kruskal-Wallis : $p > 0.05$), avec un passage au stade mature compris entre le jour 84 et le jour 252 pour les différentes conditions. En revanche, au cours de la deuxième et de la troisième génération, une différence est apparue entre les conditions avec ou sans plantes. Un développement plus précoce du clitelum a été observé dans les conditions en présence de plantes par rapport à celles en absence de plantes (Wilcoxon : $p < 0.05$). En effet, en présence de plantes, le développement du clitelum s'est produit entre le jour 56 et le jour 196, tandis qu'en absence de plantes, il s'est produit entre le jour 140 et le jour 224. Aucune différence significative n'a été observée entre les conditions en présence de plantes, à savoir entre 1-EaL CHV et 3-EaL CHV (Wilcoxon : $p > 0.05$). De même, aucune différence n'a été constatée entre les conditions en absence de plantes, c'est-à-dire entre 1-Ea CHV et 3-Ea CHV (Wilcoxon : $p > 0.05$). Aucune différence significative n'a été observée entre les trois générations (Kruskal-Wallis : $p > 0.05$).

Effet des plantes sur le développement des vers de terre exposés ou non à la contamination sur trois générations.

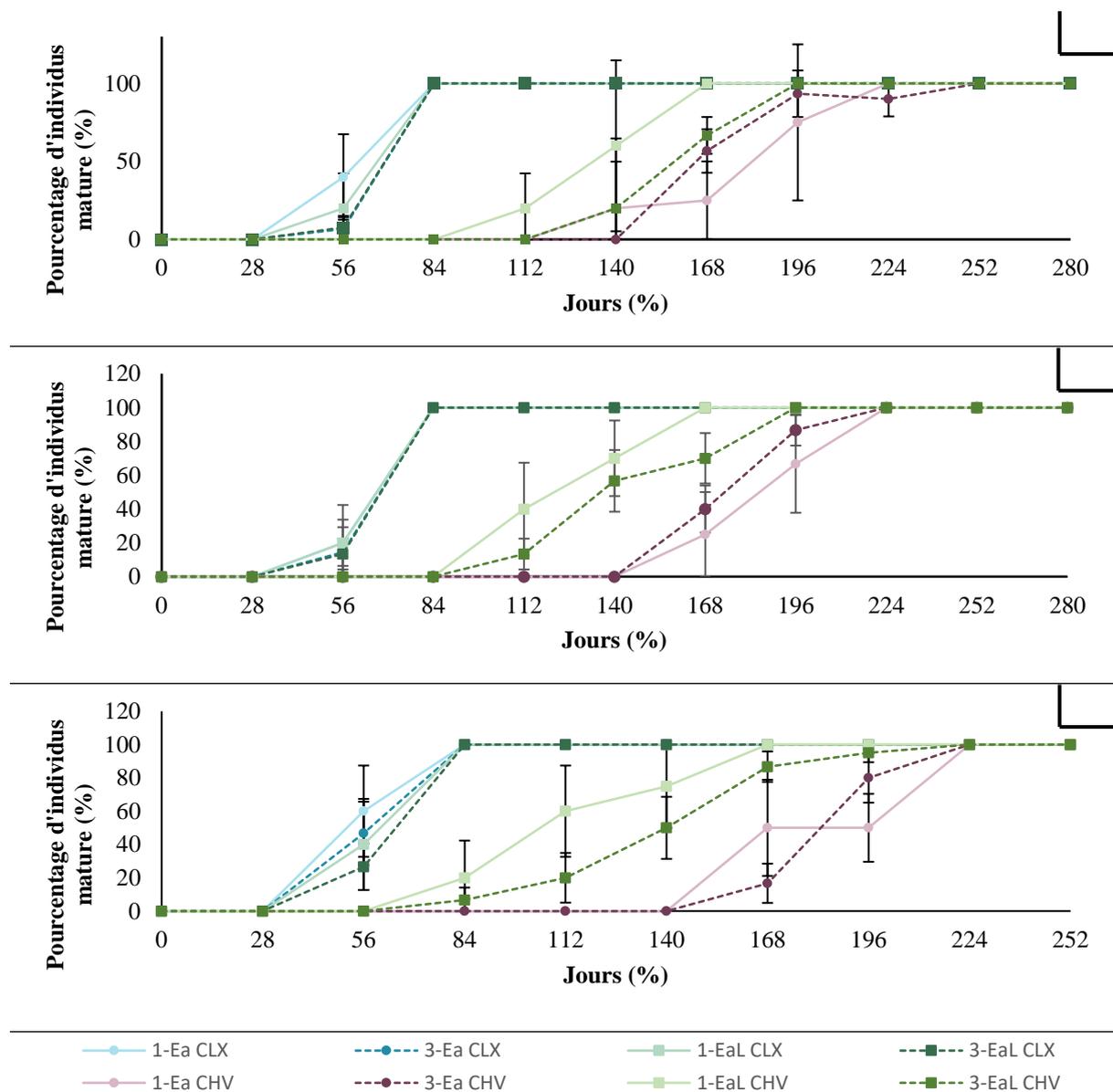


Figure 4.2 : Pourcentage moyen d'individus matures par cosme. L'apparition et le développement complet du clitellum a été retenu comme caractéristique du passage à l'état mature des vers de terre. A : Premières générations élevées dans le sol non contaminé (CLX) et le sol contaminé (CHV). B : Deuxièmes générations élevées dans le sol non contaminé (CLX) et le sol contaminé (CHV). C : Troisièmes générations élevées dans le sol non contaminé (CLX) et le sol contaminé (CHV). . $3 \leq n \leq 5$.

iv. Résultats : Relation entre les indicateurs de développement

Les corrélations entre les différentes variables mesurées pour évaluer le développement des vers de terre ont été calculées et sont présentées dans le tableau 4.2.

Chapitre 4 : Maintien de l'interaction entre les vers de terre et les plantes sur une longue période de temps

Ainsi, le lien entre la longévité des vers de terre ($T_{100\%}$) leur poids (poids moyen à maturité) et leur vitesse de développement (temps pour passer au stade mature) a été calculé. Premièrement, une corrélation positive a été observée entre le poids des vers de terre et leur longévité, avec un coefficient de corrélation de 0.94 ($p < 0.01$). Deuxièmement, deux autres corrélations négatives ont été mises en évidence. La première concerne la corrélation entre le temps nécessaire pour atteindre la maturité et la longévité des vers de terre ($p < 0.05$), avec un coefficient de -0.90. La seconde corrélation a été calculée entre le temps nécessaire pour atteindre la maturité et le poids des vers de terre à maturité, avec un coefficient de -0.98 ($p < 0.001$).

Tableau 4.2 : Coefficient de corrélations entre les variables de développement des vers de terre. Les paramètres sont la longévité des vers de terre ($T_{100\%}$) leur poids (poids moyen à maturité) et leur vitesse de développement (temps pour passer au stade mature). Les coefficients significatifs sont désigné par les symboles suivants : * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$) et *** ($p < 0.001$).

Paramètres	$T_{100\%}$	Poids	Maturité
$T_{100\%}$	-	0.94 (**)	-0.90 (*)
Poids	-	-	-0.98 (***)
Maturité	-	-	-

v. Discussion : la présence de plantes diminue l'impact de la contamination sur le développement des vers de terre.

D'après les résultats obtenus, il est clair que l'exposition au sol CHV à texture sableuse, riche en matières organiques mais contaminé a un effet négatif sur l'ensemble des paramètres étudiés chez les vers de terre. La présence d'ET dans les sols est reconnue pour affecter le développement des vers de terre (Sivakumar, 2015 ; Morgan & Morgan, 1993). Alors que les indicateurs de longévité et de temps nécessaire pour atteindre la maturité restent stables sur trois générations, le poids des vers de terre diminue pour les conditions 1-Ea CHV et 3-Ea CHV au fil des générations, suggérant une augmentation de la sensibilité des vers de terre au cours des générations. Les mécanismes sous-jacents à cette augmentation de la sensibilité des vers de terre ne peuvent pas être complètement expliqués dans le cadre de cette expérience. Cependant, des études

Effet des plantes sur le développement des vers de terre exposés ou non à la contamination sur trois générations.

antérieures ont suggéré l'existence d'effets épigénétiques de l'exposition des vers de terre à la contamination (Vasseur & Bonnar, 2014), ainsi qu'un effet différé de la contamination sur la qualité des cocons (Sivakumar, 2015).

La présence de plantes entraîne une restauration partielle des indicateurs physiologiques, bien que cela ne suffise pas à compenser entièrement les effets négatifs des contaminants dans le sol. Bien que l'effet positif des plantes sur la préservation des populations de vers de terre dans le sol soit souvent évoqué dans la littérature, il n'a été que peu démontré dans le contexte des sols contaminés (Edwards et al., 2004). L'une des hypothèses couramment avancées est que les plantes apportent de la matière organique au sol, soit par le dépôt de litière sur le sol, soit par la production de racines (Blouin et al., 2013), ce qui peut générer une meilleure qualité de nourriture pour les vers de terre. Cependant, il est surprenant de constater que les concentrations de Zn, Cd et Cu observées dans les parties racinaires des plantes au cours de l'expérience A (Chapitre 3 : Cu : 113,78 mg.kg⁻¹, Zn : 363,77 mg.kg⁻¹, Cd : 6,42 mg.kg⁻¹) sont proches des concentrations totales dans le sol (Chapitre 2 : Cu : 139,1 mg.kg⁻¹, Zn : 587,5 mg.kg⁻¹, Cd : 6,8 mg.kg⁻¹). Cela suggère donc que la nourriture fournie par les plantes est proche en termes de contamination que celle du sol.

4.1.2 Effet de la présence des plantes et de la contamination sur la reproduction des vers de terre

i. Résultats : Caractéristiques des cocons produits par les vers de terre

Les résultats de la surveillance des cocons sont présentés dans le Tab. 4.3.

Aucune différence concernant le temps d'éclosion des cocons n'a été observée (ANOVA : $p > 0.05$). En revanche, une diminution de la production et du taux d'éclosion des cocons a été observée dans le sol contaminé (CHV) par rapport aux conditions de contrôle dans le sol (CLX). Ainsi, le taux de production des cocons passe de valeurs comprises entre 2.0 et 2.3 cocons.individu⁻¹.semaine⁻¹ dans les conditions non contaminées (CLX) à des valeurs entre 1.6 et 1.7 cocons.individu⁻¹.semaine⁻¹ dans le sol contaminé (CHV) (Tukey-HSD : $p < 0.01$). De même, alors qu'un taux d'éclosion supérieur à 91 % est observé dans les conditions non contaminées (CLX), il est inférieur à 84 % dans les conditions contaminées (CHV) (Tukey-HSD : $p < 0.001$). Dans

Chapitre 4 : Maintien de l'interaction entre les vers de terre et les plantes sur une longue période de temps

les conditions contaminées, la présence ou l'absence de plantes influence également le taux d'éclosion des cocons. Ainsi, un taux d'éclosion plus élevé en présence de plantes est observé par rapport à celui calculé en l'absence de plantes (Tukey-HSD : $p < 0.05$).

Tableau 4.3 : Caractéristiques des cocons produits par les vers de terre. Les valeurs sont présentées sous la forme valeur moyenne \pm écart-type. Les différences significatives entre les conditions pour chaque paramètre sont indiquées par différentes lettres (Tukey-HSD : $p < 0.05$).

Sol	Génération	Condition	Production (semaine ⁻¹ .ind ⁻¹)	Taux d'éclosion (%)	Temps d'éclosion (jours)
CLX	1	3-EaL	2.1 \pm 0.2 (a)	91.7 % \pm 7.1 (a)	18.4 \pm 5.0 (a)
		3-Ea	2.2 \pm 0.3 (a)	93.1 % \pm 4.7 (a)	18.2 \pm 6.5 (a)
	2	3-EaL	2.3 \pm 0.2 (a)	92.7 % \pm 6.8 (a)	19.7 \pm 5.6 (a)
		3-Ea	2.0 \pm 0.2 (a)	95.4 % \pm 4.5 (a)	18.4 \pm 6.9 (a)
	3	3-EaL	2.2 \pm 0.3 (a)	91.6 % \pm 5.3 (a)	20.7 \pm 6.6 (a)
		3-Ea	2.1 \pm 0.2 (a)	94.1 % \pm 7.5 (a)	18.1 \pm 7.6 (a)
CHV	1	3-EaL	1.6 \pm 0.3 (b)	78.2 % \pm 7.7 (c)	18.2 \pm 6.9 (a)
		3-Ea	1.7 \pm 0.1 (b)	69.6 % \pm 8.6 (b)	22.1 \pm 5.8 (a)
	2	3-EaL	1.7 \pm 0.3 (b)	84.8 % \pm 7.6 (c)	21.5 \pm 4.6 (a)
		3-Ea	1.7 \pm 0.1 (b)	68.7 % \pm 9.0 (b)	20.6 \pm 6.2 (a)
	3	3-EaL	1.6 \pm 0.2 (b)	83.5 % \pm 9.4 (c)	19.3 \pm 6.9 (a)
		3-Ea	1.7 \pm 0.2 (b)	69.1 % \pm 6.8 (b)	20.8 \pm 7.2 (a)

ii. Résultats : Relation entre les variables de développement et de reproduction

Les coefficients de corrélation entre les variables de développement et de reproduction des vers de terre sont présentés dans le tableau 4.4.

La corrélation entre la longévité des vers de terre ($T_{100\%}$) et les variables de reproduction n'a pas pu être calculée en raison du nombre trop faible de mesures pour la longévité ($n = 4$). Deux fortes corrélations significativement positives ont été calculées entre le poids à maturité des vers de terre et le taux de production de cocons ainsi que le taux d'éclosion des cocons. Enfin, une corrélation négative a été observée entre le temps nécessaire pour atteindre l'état mature et le taux de production de cocons, avec un coefficient de -0.90 ($p < 0,05$). Entre les indicateurs de reproduction, une corrélation a été calculée entre le taux de production de cocons et le taux d'éclosion des cocons, avec un coefficient de 0.78 ($p < 0,01$). Le temps d'éclosion des cocons,

Effet des plantes sur le développement des vers de terre exposés ou non à la contamination sur trois générations.

quant à lui, ne présente de corrélation significative avec aucun des indicateurs, que ce soit de développement ou de reproduction.

*Tableau 4.4 : Coefficient de corrélation entre les indicateurs de développement et de reproduction des vers de terre. Les paramètres sont la longévité des vers de terre ($T_{100\%}$), leur poids (poids moyen à maturité), leur vitesse de développement (temps pour passer au stade mature), le taux de production des cocons (cocons.individu⁻¹.semaine⁻¹), le taux d'éclosion des cocons produits (%) et le temps d'éclosion (jours). Les différences significative sont représentées par différents symboles * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$), n.s. ($p > 0.05$), n.a. (non applicable).*

	Paramètres	Production de cocons	Éclosion des cocons	Temps d'éclosion
	$T_{100\%}$	n.a.	n.a.	n.a.
Développement	Poids	0.83 (***)	0.93 (***)	n.s.
	Maturité	-0.90 (*)	n.s.	n.s.
	Taux de production	-	0.78 (**)	n.s.
Reproduction	Taux d'éclosion	-	-	n.s.
	Temps d'éclosion	-	-	-

iii. Discussion : Effet de la contamination et des plantes sur la reproduction des vers de terre

Tout d'abord, tout comme pour le développement des vers de terre, l'exposition à un sol contaminé influe négativement sur la reproduction des vers de terre, avec une diminution à la fois du taux de production des cocons mais également du taux d'éclosion.

Cette diminution de la reproduction par les vers de terre en présence de contaminants a déjà été rapportée dans la littérature (Spurgeon & Hopkin, 1996b), avec, dans certains cas, un arrêt total de la production de cocons. Dans notre cas, avec un taux de production autour de 1.6 – 1.7 cocon par individu par semaine, l'effet de la contamination sur la reproduction est resté faible. En effet, plusieurs études utilisant un sol naturel non contaminé présentent un taux de production similaire (Bart et al., 2019 ; Bart et al., 2018). De plus, un taux inférieur à 1.4 cocon par individu par semaine a été rapporté par Holmstrup (2001) en utilisant deux sols sablo-limoneux. Au cours

Chapitre 4 : Maintien de l'interaction entre les vers de terre et les plantes sur une longue période de temps

de cette expérience, Holmstrup (2001) a également observé un lien fort entre la baisse du poids des vers de terre exposés à un stress et une diminution de la production de cocons.

Le taux d'éclosion des cocons est quant à lui influencé à la fois par la contamination du sol, mais également par la présence de plantes, ces dernières permettant de contrebalancer en partie les impacts négatifs liés à la contamination. Les mécanismes derrière cet effet positif ne peuvent être expliqués par cette expérience. En effet, nous ne pouvons pas savoir si les plantes jouent un rôle direct sur l'éclosion des cocons, par exemple en réduisant la biodisponibilité des ET pour les cocons, ou si les seuls effets positifs des plantes se font via une amélioration de la santé des parents, produisant ainsi des cocons de meilleure qualité.

Enfin, le temps d'éclosion n'est quant à lui lié à aucun paramètre. L'impact de la contamination sur ce paramètre est peu étudié dans la littérature et semble être principalement régulé par la température (Zhang et al., 2008 ; Bhattacharjee & Chaudhuri, 2002). Or, les cocons étant incubés à une température constante de 20 °C, cela pourrait expliquer l'absence de différence entre les conditions.

4.2 EFFET DES VERS DE TERRE SUR LE SOL ET LES PLANTES A TRAVERS LES GENERATIONS

4.2.1 Modification des caractéristiques du sol par les vers de terre au cours de la première génération

i. Résultat : Évolution de l'effet des vers de terre sur le pH du sol au cours de la première génération.

Les valeurs initiales du pH du sol mis dans les cosmes varient entre 6.71 et 7.16 pour le sol non contaminé (CLX) et entre 7.87 et 8.15 pour le sol contaminé (CHV) (données non représentées). Le pH final du sol mesuré dans les cosmes lors de chaque renouvellement est présenté sur la Figure 4.3.

Concernant le sol non contaminé (CLX ; Fig 4.3s.A), en l'absence de vers de terre (carré gris), un pH compris entre 6.53 et 7.04 est mesuré tout au long de l'expérience lors de chaque renouvellement de cosme dans les anciens sols (ANOVA : $p > 0.05$) et entre 7.61 et 8.09 en l'absence de vers de terre mais en présence de plantes (carré vert) (ANOVA : $p > 0.05$).

Lorsque les vers de terre sont incubés dans des cosmes non contaminés (CLX) en présence de plantes (1-EaL et 3-EaL), aucune différence par rapport aux contrôles plantés n'est observée (ANOVA : $p > 0.05$). Pour la condition 1-Ea, lors des deux premiers renouvellements de sol, le pH des sols sortis des cosmes n'est pas significativement différent de leur valeur initiale (test-t : $p > 0.05$). Jusqu'au quatrième changement de cosme (jour 112), une acidification de plus en plus importante des sols est mesurée lors des changements de sol. Passé le quatrième changement de cosme (jour 112), une diminution de 0.7 unité de pH est observée tous les 28 jours entre les valeurs initiales des sols et leur valeur finale lors du renouvellement de sol (Tukey-HSD : $p < 0.01$). Cette diminution est restée constante à chaque renouvellement de cosme et ce jusqu'à la fin de la première génération (Tukey-HSD : $p > 0.05$). Pour la condition 3-Ea, un schéma similaire a été observé. En effet, lors du premier changement de sol au jour 28, aucune différence significative n'a été observée entre le pH initial (6.92, jour 1) et le pH final (6.85, jour 28) (test-t : $p > 0.05$). Suite à cela, à chaque changement de cosme, une acidification du sol a été mesurée entre les valeurs

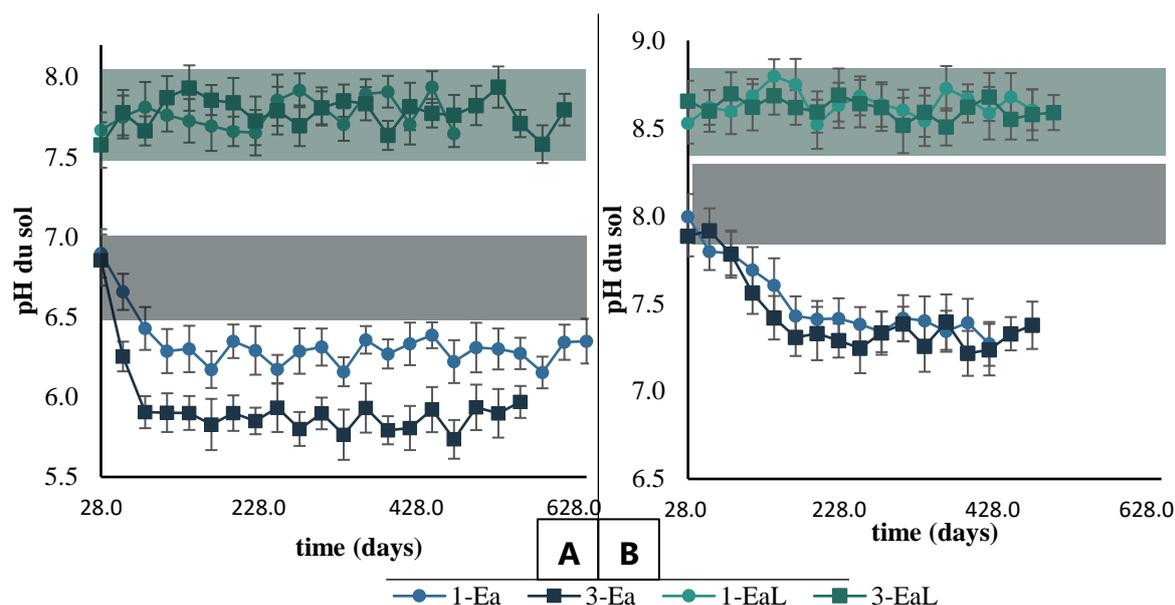


Figure 4.3 : pH du sol non contaminé (CLX) (A) ou contaminé (CHV) (B) mesuré lors de chaque changement de sol dans les cosmes tous les 28 jours avant d'être remplacé par un nouveau sol. Les zones grises représentent les valeurs de pH mesurées dans les cosmes en l'absence de vers de terre et de plantes, et les zones vertes correspondent aux valeurs mesurées dans les cosmes en l'absence de vers de terre mais en présence de plantes.

finales et initiales (t-test : $p < 0.05$) avec une diminution d'environ 1.13 unités de pH à partir du jour 84 (Tukey-HSD : $p < 0.01$).

Chapitre 4 : Maintien de l'interaction entre les vers de terre et les plantes sur une longue période de temps

Concernant le sol contaminé (Fig 4.3.B), en l'absence de vers de terre (carré gris), le pH mesuré dans les anciens sols lors du renouvellement des cosmes est compris entre 7.86 et 8.32 tout au long de l'expérience (ANOVA : $p > 0.05$) et entre 8.39 et 8.73 en l'absence de vers de terre mais en présence de plantes (carré vert) (ANOVA : $p > 0.05$).

Lorsque les vers de terre sont élevés dans des cosmes contaminés (CHV) avec des plantes (1-EaL, 3-EaL), aucune différence par rapport aux contrôles plantés n'est observée (ANOVA : $p > 0.05$). Pour les conditions 1-Ea et 3-Ea, une acidification de plus en plus importante est observée lors des changements de sol, jusqu'au sixième renouvellement de cosme (jour 168). Passé le sixième renouvellement de cosme, une baisse de 0.9 unité de pH est mesurée tous les 28 jours entre la valeur initiale des sols et leur valeur après 28 jours d'incubation (Tukey-HSD : $p < 0.01$).

ii. Résultat : Évolution de l'effet des vers de terre sur la conductivité du sol au cours de la première génération

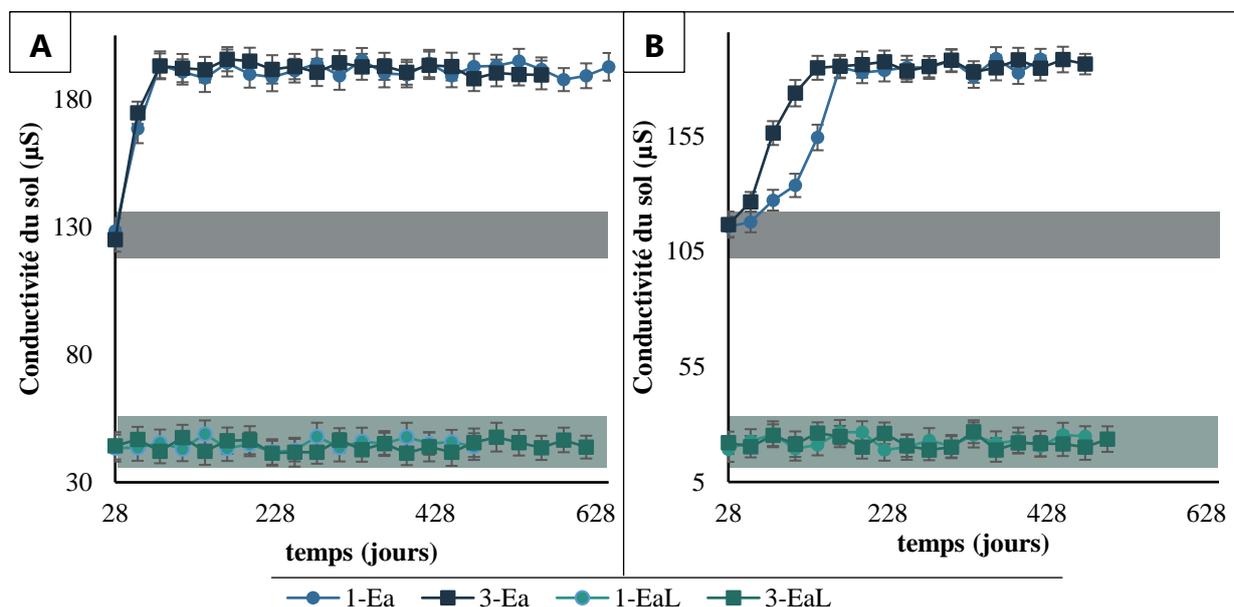


Figure 4.4 : Conductivité du sol (μS) dans le sol non contaminé (A) ou le sol contaminé (B), mesurée lors de chaque changement de sol dans les cosmes tous les 28 jours avant d'être remplacée par un nouveau sol. Les zones grises représentent les valeurs de conductivité mesurées dans les cosmes en l'absence de vers de terre et de plantes, tandis que les zones vertes correspondent aux valeurs mesurées dans les cosmes en l'absence de vers de terre mais en présence de plantes.

La conductivité initiale du sol dans les cosmes varie entre 132.65 et 139.10 μS pour le sol non contaminé (CLX) et entre 80.81 et 94.21 μS pour le sol contaminé (CHV). Les mesures de

conductivité effectuées lors de chaque renouvellement de cosme sont présentées dans la Figure 4.3.

Dans le sol non contaminé (CLX) (Fig. 4.4.A), la conductivité des anciens sols mesurée lors des renouvellements de cosmes est restée stable tout au long de l'expérimentation (Kruskall-Wallis : $p > 0.05$). Une conductivité finale entre 127.62 μS et 136.25 μS a été mesurée en l'absence de plantes (rectangle gris) et entre 36.40 et 58.35 μS en présence de plantes (rectangle vert). Lors de chaque renouvellement des cosmes, aucune différence entre les conditions 1-Ea et 3-Ea n'a été observée (Wilcoxon : $p < 0.05$). Une augmentation de la conductivité du sol a été constatée à partir du deuxième renouvellement de cosme (jour 56) par rapport au contrôle non planté (rectangle gris) (Tukey-HSD : $p < 0.01$). Cette augmentation s'est stabilisée à partir du troisième renouvellement de cosme, avec une augmentation d'environ 60 μS . En présence de plantes, aucune différence par rapport au contrôle planté n'a été observée (ANOVA : $p > 0.05$).

Dans le sol contaminé (CHV) (Fig. 4.4.B), tout comme pour les contrôles non contaminés, la conductivité mesurée lors des renouvellements de cosmes est restée stable tout au long de l'expérimentation (Kruskal-Wallis : $p > 0.05$). En l'absence de plantes (1-Ea et 3-Ea), une augmentation progressive de la conductivité finale mesurée lors des renouvellements de cosmes a été observée (Wilcoxon : $p < 0.05$) avant de se stabiliser (Wilcoxon : $p > 0.05$). Cette stabilisation s'est produite à partir du cinquième renouvellement de cosme (jour 140) pour la condition 3-Ea et à partir du sixième renouvellement de cosme (jour 168) pour la condition 1-Ea (Wilcoxon : $p > 0.05$). De plus, cette stabilisation s'est faite autour de la même valeur, 180 μS , pour les deux conditions. En présence de plantes, aucune différence par rapport au contrôle planté n'a été observée (Kruskal-Wallis : $p > 0.05$).

4.2.2 Modification de la croissance des plantes par les vers de terre au cours de la première génération

i. Résultat : Évolution de l'effet des vers de terre sur le poids des plantes au cours de la première génération.

Tout d'abord, en ce qui concerne le poids de la partie aérienne des plantes dans les cosmes non-contaminés (Fig. 4.5.A), toutes les valeurs sont significativement plus élevées que celles

Chapitre 4 : Maintien de l'interaction entre les vers de terre et les plantes sur une longue période de temps

mesurées dans la condition contrôle (rectangle vert), à l'exception de la mesure lors du premier changement de cosme dans la condition 1-EaL (Wilcoxon : $p < 0.01$). À partir du 3ème changement de cosme pour la condition 1-EaL et du 2ème changement de cosme pour la condition 3-EaL, une stabilisation du poids de la partie aérienne des plantes est observée. Ainsi, un poids moyen de 219.29 et 222.53 mg par plante a été observé pour les conditions 1-EaL et 3-EaL respectivement (Wilcoxon : $p > 0.05$).

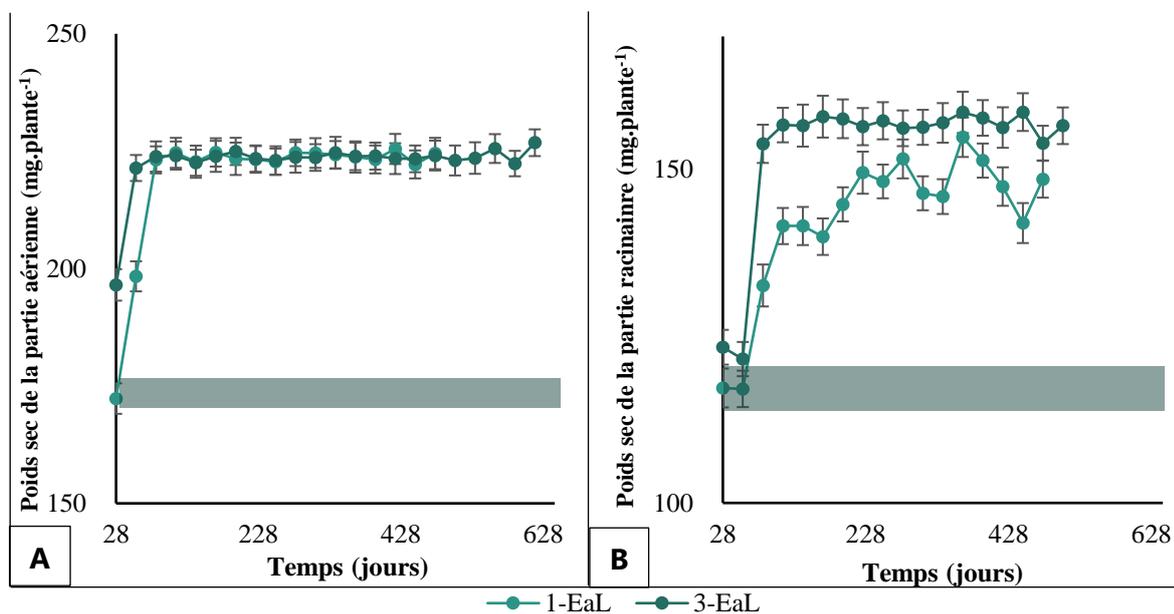


Figure 4.5 : Poids de la partie aérienne des plantes (mg.plante^{-1}) cultivées sur un sol non-contaminé (CLX) (A) ou contaminé (CHV) (B) mesuré lors de chaque changement de sol dans les cosmes tous les 28 jours. Les cadres verts correspondent aux valeurs mesurées dans les cosmes en absence de vers de terre mais en présence de plantes.

Pour les plantes cultivées sur le sol contaminé (CHV) (Fig. 4.5.B), la biomasse moyenne des plantes contrôles (rectangle vert) est de 117.96 mg par plante. Pour la condition 3-EaL, un point de bascule est observé à partir du troisième changement de cosme (jour 84). Avant ce changement, le poids de la partie aérienne des plantes récoltées est égal à celui des plantes contrôles (Wilcoxon : $p > 0.05$). En revanche, juste après le troisième changement de cosme, une augmentation de la biomasse est observée à chaque changement de cosme, mais sans une tendance précise.

Concernant le poids des parties racinaires des plantes, dans les cosmes non-contaminés (Fig. 4.6.A), le poids moyen par plante est resté stable à 65.96 mg tout au long de la première génération (Wilcoxon : $p > 0.05$).

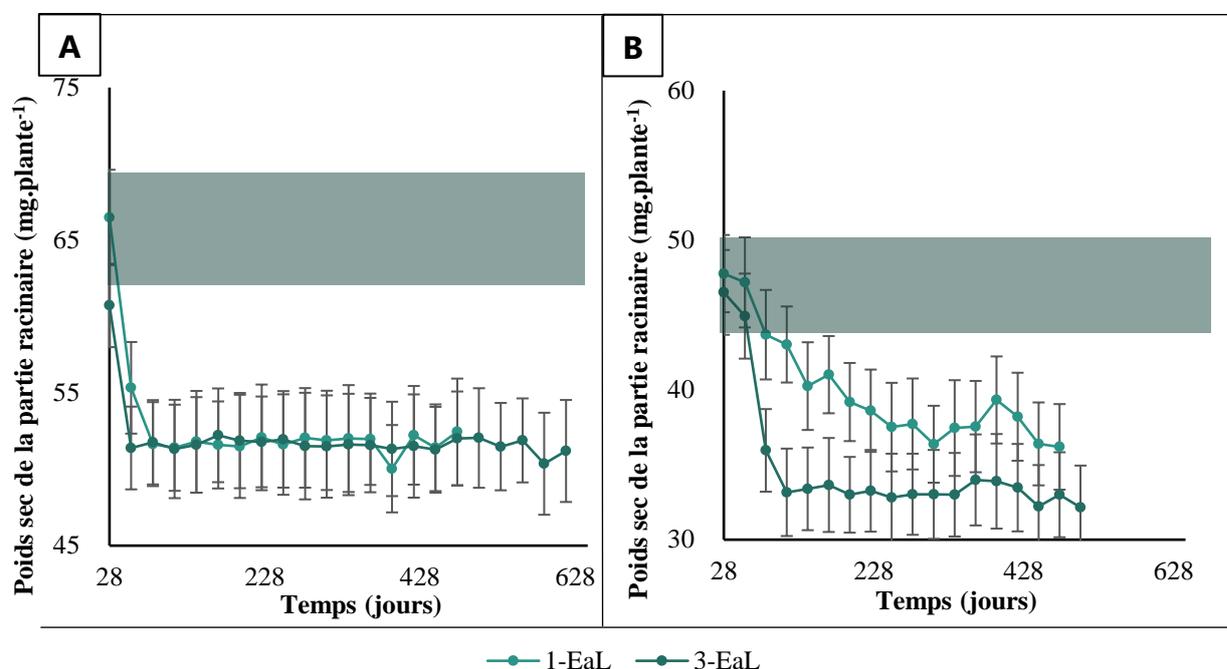


Figure 4.6 : Poids de la partie racinaire des plantes (mg.plante⁻¹) cultivées sur le sol non-contaminé (A) ou contaminé (B) mesuré lors de chaque changement de sol dans les cosmes tous les 28 jours. Les cadres verts correspondent aux valeurs mesurées dans les cosmes en absence de vers de terre mais en présence de plantes.

En présence de vers de terre, une diminution du poids des racines (Wilcoxon : $p < 0.05$) a été observée à partir du deuxième changement de cosme (jour 56) pour les conditions 1-EaL et 3-EaL. Cependant, à partir du troisième changement de cosme (jour 84), il y a eu une stabilisation. Pendant toute la première génération, il n'y a eu aucune différence significative entre les conditions 1-EaL et 3-EaL (Wilcoxon : $p > 0.05$).

Pour les plantes cultivées dans les cosmes contaminés (CHV) (Fig. 4.6.B), un poids moyen de 46.95 mg par plante a été calculé pour la condition contrôle (rectangle vert) sans différence significative entre les cosmes successifs (Wilcoxon : $p > 0.05$).

Dans le cas de la condition 3-EaL, une diminution du poids de la partie racinaire a été observée à partir du troisième changement de cosme (jour 84), suivi d'une stabilisation à partir du quatrième changement de cosme (jour 112), avec un poids moyen de 33.17 mg par plante. Après

Chapitre 4 : Maintien de l'interaction entre les vers de terre et les plantes sur une longue période de temps

le jour 84, aucune différence significative n'a été observée entre les cosmes successifs (Wilcoxon : $p > 0.05$).

En ce qui concerne la condition 1-EaL, aucune différence significative n'a été observée avant le cinquième changement de cosme (jour 140) par rapport au contrôle (Wilcoxon : $p > 0.05$). Cependant, après ce cinquième changement de cosme (jour 140), une diminution progressive de la biomasse racinaire des plantes 1-EaL a été observée jusqu'à la fin de la première génération ($p < 0.05$).

ii. Discussion : L'effet des vers de terre sur l'environnement varie avec leur âge.

La présence de vers de terre entraîne une augmentation du poids de la partie aérienne et une réduction du poids de la partie racinaire pour les deux types de sols, CLX (non contaminé) et CHV (contaminé). Cette tendance concorde avec les observations du chapitre 3.

De manière similaire aux modifications observées pour les paramètres du sol, nous identifions trois phases dans la réponse des plantes : 1/ absence d'effets, 2/ augmentation de l'intensité de l'effet, et 3/ stabilisation à une intensité maximale. Cependant, cette courbe de réponse apparaît plus tôt pour les plantes que pour les caractéristiques du sol, indiquant une réaction plus précoce des plantes aux activités des vers de terre. Toutefois, dans la condition 1-EaL CHV, nous n'observons pas de phase de stabilisation claire. L'effet sur la biomasse aérienne et racinaire continue de varier.

En termes d'intensité de la réponse, les valeurs se superposent dans les conditions non contaminées (CLX). En revanche, dans les conditions contaminées (CHV), la réponse est dépendante de la densité. Bien que des effets spécifiques à chaque type de sol ne puissent être totalement exclus (van Groenigen et al., 2014 ; Blouin et al., 2013), nos résultats suggèrent que la présence de contaminants diminue la capacité des vers de terre à influencer la croissance des plantes. Le ralentissement de l'activité de fouille et de la production de turricules dû à la contamination (Liu et al., 2020 ; Sivakumar, 2015) pourrait expliquer ces observations. En effet, l'ingestion et le rejet de sol sous forme de turricules constituent les principaux moyens par lesquels les vers de terre modifient le sol (Brown et al., 2000). L'impact de la contamination se

manifeste par la nécessité d'une plus grande densité de vers de terre pour obtenir un effet complet sur la biomasse aérienne et racinaire.

Cependant, malgré les différences absolues entre les conditions, nous observons la même augmentation relative maximale du poids de la partie aérienne : 29 % pour les conditions non contaminées et 33 % pour la condition 3-EaL CHV. Cette augmentation est cohérente avec les résultats du chapitre 3 et avec la littérature (van Groenigen et al., 2014). De même, la diminution du poids racinaire observée pour les différentes conditions est conforme aux observations du chapitre 3 et aux résultats publiés (Scheu, 2003). Cependant, l'intensité de la diminution du poids racinaire varie significativement d'une expérience à l'autre. Ces résultats indiquent que l'effet des vers de terre sur la biomasse racinaire des plantes est plus variable que leur effet sur la biomasse aérienne.

Nous avons ainsi pu démontrer que les vers de terre continuent d'influencer les caractéristiques physico-chimiques du sol et la croissance des plantes tout au long de leur vie, bien que ces effets soient dépendants de la densité. Dans la section suivante, nous examinerons la stabilité de ces effets entre les générations successives de vers de terre.

4.2.3 Evolution des indicateurs au cours des générations

i. Résultat : Stabilité de l'effet des vers de terre sur le pH et la conductivité du sol, au cours de trois générations successives

Dans le cadre de cette étude, que ce soit pour le pH ou la conductivité du sol, nous n'avons constaté aucune différence significative en présence de plantes par rapport à la condition contrôle plantée. Ceci est observé au cours de trois générations et pour les deux densités (1-EaL et 3-EaL) dans les deux types de sols (contaminé et non-contaminé). Seules les conditions présentant des variations par rapport aux contrôles sont détaillées dans les tableaux 4.5 et 4.6, c'est-à-dire les conditions 1-Ea et 3-Ea.

D'abord, dans le sol non contaminé (CLX), des différences entre les générations pour la condition 1-Ea ont été observées (Wilcoxon : $p < 0.05$). Ainsi, alors qu'une première différence par rapport au contrôle est notée au jour 95 (entre le 3ème et le 4ème changement de cosme) pour la 1ère génération, elle apparaît plus tôt, au jour 73 (entre le 2ème et le 3ème changement de

Chapitre 4 : Maintien de l'interaction entre les vers de terre et les plantes sur une longue période de temps

cosme), pour la 3^{ème} génération. De même, le temps moyen pour atteindre l'effet maximal des vers de terre diminue du jour 106 (entre le 3^{ème} et le 4^{ème} changement de cosme) pour la 1^{ère} génération à 78 jours (entre le 2^{ème} et le 3^{ème} changement de cosme) pour la 3^{ème} génération (Wilcoxon : $p < 0.05$). Cependant, aucune différence n'a été observée entre les générations concernant l'effet des vers de terre après la stabilisation (Wilcoxon : $p > 0.05$). Pour la condition 3-Ea, aucune différence, que ce soit en termes de cinétique ou de valeurs atteintes, n'a été observée entre les trois générations successives (Wilcoxon : $p > 0.05$). De plus, la différence de pH entre les conditions 1-Ea et 3-Ea est restée stable entre les différentes générations (Kruskal-Wallis : $p > 0.05$).

En ce qui concerne le sol contaminé (CHV), pour la 2^{ème} génération de la condition 1-Ea, aucune stabilisation de l'effet des vers de terre sur le pH n'a été observée au fil du temps. Les valeurs semblent fluctuer de manière aléatoire au cours des changements de cosme. Cependant, ces variations de l'effet des vers de terre sur le pH semblent suivre les tendances de poids des vers de terre dans les cosmes (voir 4.2.2 - iii). Pour les autres conditions et générations, aucune

Tableau 4.5 : Évolution de l'impact des vers de terre sur le pH du sol au cours des trois générations successives. Les valeurs sont représentées sous la forme valeur moyenne \pm écart-type. Le symbole n.a. indique que le paramètre n'a pu être calculé dû à un manque de stabilisation des valeurs au cours du temps. Les différences significatives entre les conditions sont représentées par différentes lettres (Wilcoxon : $p < 0.05$).

Sol	Condition	Génération	Première date différente du contrôle	Temps avant stabilisation	Valeur moyenne après stabilisation
CLX	1-Ea	1 ^{ère}	95 \pm 25 (a)	106 \pm 13 (a)	6.28 \pm 0.07 (a)
		2 ^{ème}	90 \pm 23 (ab)	101 \pm 15 (a)	6.25 \pm 0.08 (a)
		3 ^{ème}	73 \pm 15 (b)	78 \pm 13 (b)	6.22 \pm 0.06 (a)
	3-Ea	1 ^{ère}	56 \pm 20 (c)	78 \pm 13 (b)	5.87 \pm 0.07 (b)
		2 ^{ème}	50 \pm 12 (c)	73 \pm 15 (b)	5.84 \pm 0.08 (b)
		3 ^{ème}	56 \pm 20 (c)	73 \pm 15 (b)	5.80 \pm 0.04 (b)
CHV	1-Ea	1 ^{ère}	123 \pm 15 (d)	168 \pm 20 (c)	7.38 \pm 0.05 (c)
		2 ^{ème}	140 \pm 20 (e)	n.a.	n.a.
		3 ^{ème}	118 \pm 13 (ad)	129 \pm 15 (d)	7.35 \pm 0.09 (c)
	3-Ea	1 ^{ère}	106 \pm 13 (a)	157 \pm 15 (c)	7.31 \pm 0.06 (c)
		2 ^{ème}	73 \pm 15 (b)	129 \pm 15 (d)	7.33 \pm 0.08 (c)
		3 ^{ème}	90 \pm 23 (ab)	129 \pm 15 (d)	7.42 \pm 0.15 (c)

Tableau 4.6 : Évolution de l'impact des vers de terre sur la conductivité du sol au cours des trois générations successives. Les valeurs sont représentées sous la forme valeur moyenne \pm écart-type. Le symbole *n.a.* indique que le paramètre n'a pu être calculé dû à un manque de stabilisation des valeurs au cours du temps. Les différences significatives entre les conditions sont représentées par différentes lettres (Wilcoxon : $p < 0.05$).

Sol	Condition	Génération	Première date différente du contrôle	Temps avant stabilisation	Différence avec le contrôle après stabilisation
CLX	1-Ea	1 ^{ère}	56 \pm 0 (ab)	84 \pm 20 (a)	191.32 \pm 2.34 (a)
		2 ^{ème}	56 \pm 0 (ab)	78 \pm 23 (a)	191.51 \pm 2.97 (a)
		3 ^{ème}	50 \pm 13 (a)	73 \pm 25 (a)	191.78 \pm 2.59 (a)
	3-Ea	1 ^{ère}	56 \pm 0 (ab)	78 \pm 13 (a)	192.03 \pm 2.00 (a)
		2 ^{ème}	50 \pm 13 (a)	73 \pm 15 (a)	190.97 \pm 2.27 (a)
		3 ^{ème}	45 \pm 15 (a)	67 \pm 15 (a)	192.63 \pm 2.72 (a)
CHV	1-Ea	1 ^{ère}	84 \pm 20 (abc)	146 \pm 13 (b)	184.82 \pm 2.65 (b)
		2 ^{ème}	101 \pm 15 (c)	202 \pm 23 (b)	184.10 \pm 2.79 (b)
		3 ^{ème}	95 \pm 15 (c)	<i>n.a.</i>	<i>n.a.</i>
	3-Ea	1 ^{ère}	78 \pm 23 (c)	179 \pm 15 (b)	185.66 \pm 1.78 (b)
		2 ^{ème}	45 \pm 15 (a)	174 \pm 31 (b)	185.12 \pm 1.52 (b)
		3 ^{ème}	73 \pm 15 (bc)	<i>n.a.</i>	<i>n.a.</i>

différence, que ce soit en termes de cinétique ou de valeurs moyennes atteintes, n'a été notée (Wilcoxon : $p > 0.05$).

Le tableau 4.6 récapitule l'évolution de l'impact des vers de terre sur la conductivité du sol, pour les conditions 1-Ea et 3-Ea, dans les sols non contaminé (CLX) et contaminé (CHV).

En ce qui concerne les conditions 1-Ea et 3-Ea dans le sol contaminé (CHV) durant la troisième génération, une absence d'une phase de stabilisation est constatée. Les valeurs ont montré une augmentation progressive, qui s'est poursuivie jusqu'à la fin de la troisième génération, au jour 224. Pour toutes les autres conditions et générations étudiées dans les deux types de sols (CLX et CHV), aucune différence significative entre les générations n'a été observée (Wilcoxon : $p > 0.05$).

Chapitre 4 : Maintien de l'interaction entre les vers de terre et les plantes sur une longue période de temps

ii. *Résultat : Stabilité de l'effet des vers de terre sur le poids des parties aériennes et racinaires des plantes, au cours de trois générations successives*

Le tableau 4.7 présente l'évolution de l'effet des vers de terre sur le poids de la partie aérienne ainsi que de la partie racinaire des plantes, en fonction des deux sols non contaminé (CLX) et contaminé (CHV).

Dans le contexte du sol non contaminé (CLX), les résultats ont montré une stabilité de l'effet des vers de terre sur le poids des parties aériennes et racinaires des plantes, ce qui a été constaté pour les deux conditions expérimentales (1-EaL et 3-EaL). Ainsi, aucune variation significative n'a été relevée entre les différentes générations de vers de terre (Wilcoxon : $p > 0.05$).

Par contre, dans le sol contaminé (CHV), les observations sont différentes. Pour les trois générations de la condition 1-EaL, ni le poids aérien ni le poids racinaire des plantes n'ont montré de phase de stabilisation. On a plutôt assisté à une augmentation progressive des valeurs, suivie par des fluctuations sans tendance claire. Pour la condition 3-EaL, les analyses statistiques (Wilcoxon : $p > 0.05$) n'ont révélé aucune différence significative entre les générations, indiquant une certaine constance de l'effet des vers de terre sur les plantes dans cette condition particulière.

Effet des vers de terre sur le sol et les plantes à travers les générations

Tableau 4.7 : Évolution de l'impact des vers de terre sur la biomasse aérienne et racinaire des plantes au cours des trois générations successives. Les valeurs sont représentées sous la forme valeur moyenne \pm écart-type. Le symbole n.a. indique que le paramètre n'a pu être calculé dû à un manque de stabilisation des valeurs au cours du temps. Les différences significatives entre les conditions sont représentées par différentes lettres (Wilcoxon : $p < 0.05$).

Poids	Sol	Condiion	Génération	Première date différente du contrôle	Temps avant stabilisation	Différence avec le contrôle après stabilisation
Aérien	CLX	1-Ea	1ère	56 \pm 0 (ab)	84 \pm 0 (a)	223.82 \pm 0.94 (a)
			2ème	50 \pm 13 (ab)	67 \pm 15 (a)	224.22 \pm 0.88 (a)
			3ème	28 \pm 0 (a)	56 \pm 0 (a)	224.23 \pm 0.72 (a)
		3-Ea	1ère	28 \pm 0 (a)	56 \pm 0 (a)	223.77 \pm 1.12 (a)
			2ème	28 \pm 0 (a)	50 \pm 13 (ab)	224.28 \pm 0.70 (a)
			3ème	28 \pm 0 (a)	28 \pm 0 (b)	224.37 \pm 0.56 (a)
	CHV	1-Ea	1ère	84 \pm 0 (b)	n.a.	n.a.
			2ème	84 \pm 0 (b)	n.a.	n.a.
			3ème	62 \pm 23 (b)	n.a.	n.a.
		3-Ea	1ère	28 \pm 0 (a)	95 \pm 15 (c)	156.96 \pm 1.15 (b)
			2ème	45 \pm 15 (ab)	112 \pm 0 (c)	156.42 \pm 0.68 (b)
			3ème	56 \pm 0 (ab)	118 \pm 13 (c)	157.38 \pm 0.95 (b)
Souterrain	CLX	1-Ea	1ère	56 \pm 0 (ab)	84 \pm 0 (a)	51.94 \pm 0.55 5 (a)
			2ème	50 \pm 13 (ab)	67 \pm 15 (a)	51.41 \pm 0.58 (a)
			3ème	28 \pm 0 (a)	56 \pm 0 (a)	51.74 \pm 0.25 (a)
		3-Ea	1ère	28 \pm 0 (a)	56 \pm 0 (a)	51.59 \pm 0.40 (a)
			2ème	28 \pm 0 (a)	50 \pm 13 (ab)	51.74 \pm 0.46 (a)
			3ème	28 \pm 0 (a)	28 \pm 0 (b)	51.65 \pm 0.22 (a)
	CHV	1-Ea	1ère	84 \pm 0 (b)	n.a.	n.a.
			2ème	84 \pm 0 (b)	n.a.	n.a.
			3ème	62 \pm 23 (b)	n.a.	n.a.
		3-Ea	1ère	28 \pm 0 (a)	95 \pm 15 (c)	33.99 \pm 0.51 (a)
			2ème	45 \pm 15 (ab)	112 \pm 0 (c)	33.24 \pm 0.46 (a)
			3ème	56 \pm 0 (ab)	118 \pm 13 (c)	33.35 \pm 0.25 (a)

Chapitre 4 : Maintien de l'interaction entre les vers de terre et les plantes sur une longue période de temps

iii. Résultats : Relation entre les indicateurs de développement des vers de terre et les modifications des caractéristiques du sol ainsi que la croissance des plantes

Aucune relation significative entre l'âge des vers de terre et les effets observés n'a été identifiée. Cela concerne tant les caractéristiques du sol (pH et conductivité) que celles des plantes (poids des parties aériennes et racinaires) ($p > 0.05$).

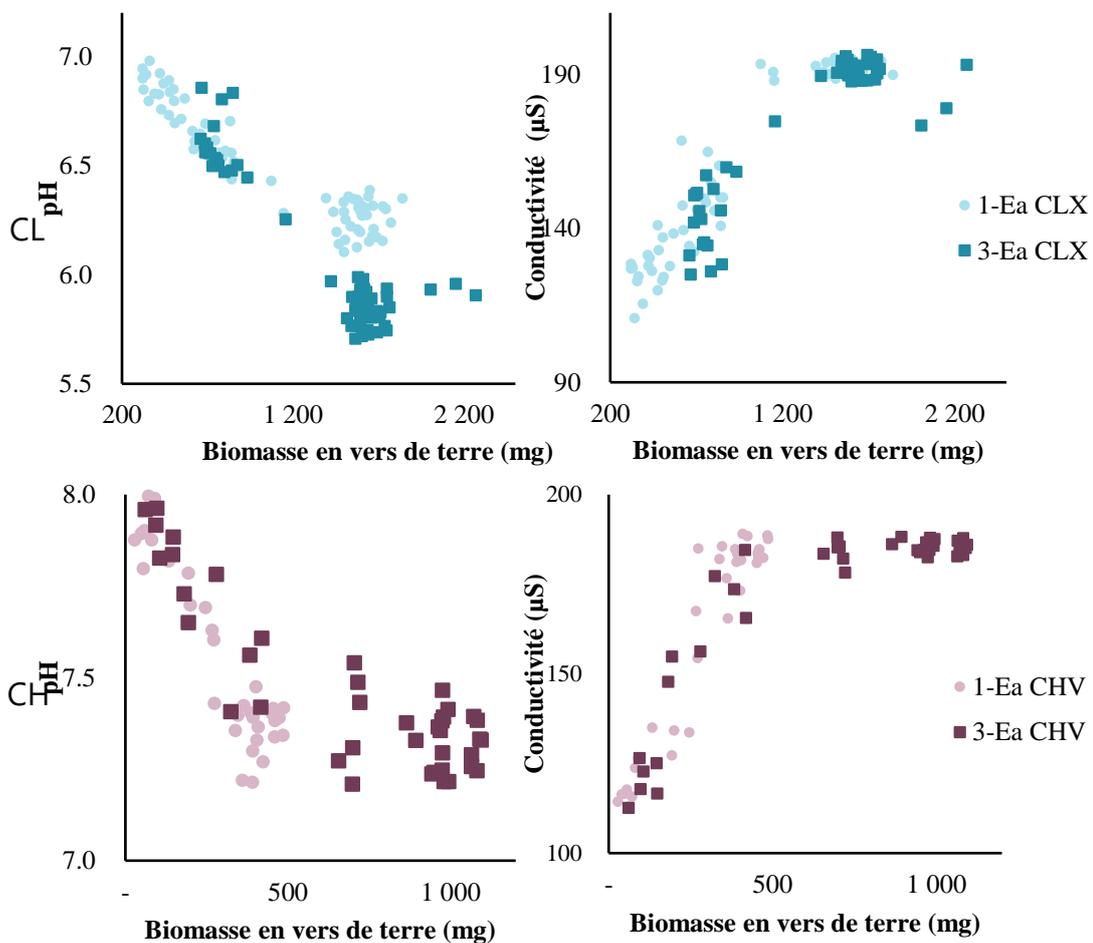


Figure 4.7 : Relation entre la biomasse totale en vers de terre et le pH et la conductivité du sol.

Une relation a été établie entre la biomasse totale de vers de terre et les caractéristiques du sol (pH et conductivité). Cette relation a été calculée en l'absence de plantes (1-Ea et 3-Ea), et ce, pour les deux types de sols étudiés (voir Fig. 4.7).

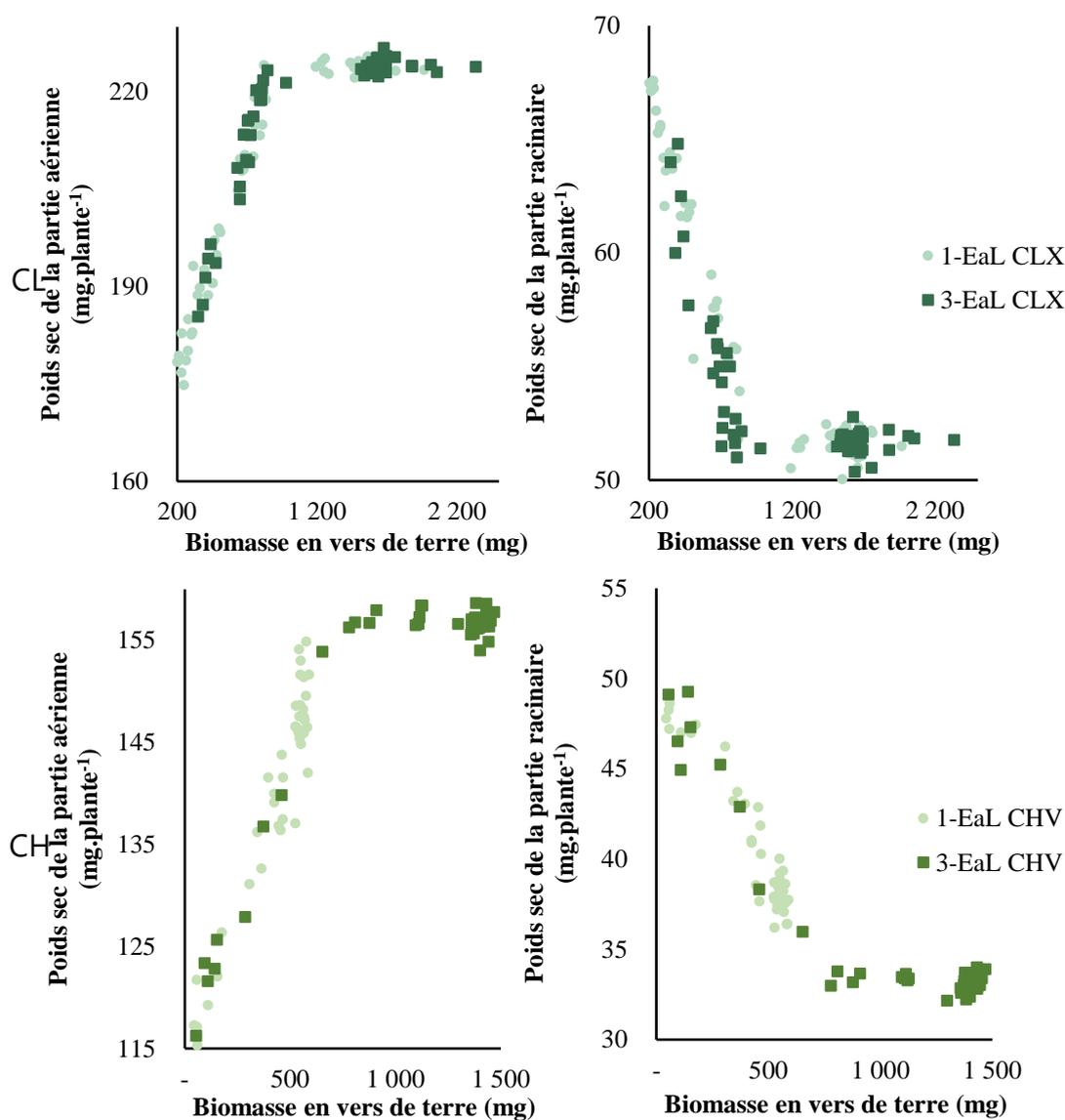


Figure 4.8 : Relation entre la biomasse totale en vers de terre et le poids des parties aériennes et souterraines des plantes.

Premièrement, une corrélation négative a été mise en évidence entre le pH du sol et la biomasse totale des vers de terre, et ce, sans qu'un seuil de biomasse ne soit identifié. Les valeurs de r^2 étaient élevées, allant de 0.88 à 0.95 ($p < 0.05$).

Concernant la conductivité du sol, une corrélation positive a été observée avec la biomasse totale des vers de terre. Toutefois, cela ne se vérifie que lorsque la biomasse totale en vers de terre est inférieure à 1 200 mg pour le sol non contaminé CLX et inférieure à 450 mg pour le sol contaminé CHV. Au-delà de ces seuils, la corrélation n'est plus significative ($p > 0.05$).

Chapitre 4 : Maintien de l'interaction entre les vers de terre et les plantes sur une longue période de temps

Enfin, les corrélations entre la biomasse totale des vers de terre et le poids des parties aériennes et souterraines des plantes dans les conditions EaL sont illustrées sur la Figure 4.8.

Pour commencer, une forte corrélation positive a été observée entre le poids de la partie aérienne des plantes et la biomasse totale des vers de terre. Cela, lorsque la biomasse en vers de terre dans les cosmes est inférieure à 700 mg par cosme pour le sol CHV et à 1 000 mg pour le sol CLX. Les valeurs de r^2 étaient élevées, allant de 0.89 à 0.97 ($p < 0.05$).

Ensuite, une forte corrélation négative a été trouvée entre le poids racinaire des plantes et la biomasse totale des vers de terre dans les sols. Cela se vérifie lorsque les biomasses en vers de terre sont inférieures aux seuils précédemment mentionnés. Les valeurs de r^2 étaient élevées, allant de 0.88 à 0.98 ($p < 0.05$).

Toutefois, au-delà de ces seuils respectifs, la corrélation entre la biomasse des vers de terre et le poids de la partie aérienne et racinaire des plantes n'est plus observée ($p > 0.05$).

iv. Discussion : Stabilité de l'interaction vers de terre - plantes au cours du temps

Malgré l'évolution observée au fil des générations de plusieurs indicateurs de développement des vers de terre, présentée dans la partie 4.1, la masse des vers de terre diminue avec le temps. Cependant, leurs impacts sur le sol et les plantes restent constants. Ceci suggère que, une activité fousseuse suffisante des vers de terre se maintient pour exprimer leurs différents rôles fonctionnels (Blouin et al., 2013). Dans nos conditions expérimentales, cela se traduit par : 1/ une acidification du sol, 2/ une augmentation de la conductivité du sol, 3/ une augmentation de la croissance aérienne des plantes et iv/ une diminution de la masse racinaire par abrasion des racines.

L'interaction plante - vers de terre s'exprime pleinement, indépendamment de la densité de vers de terre dans le sol non contaminé. En revanche, elle est dépendante de la densité dans le sol contaminé. Ces effets sont en relation avec le franchissement ou non de seuils de biomasse totale de vers de terre dans les sols. Ces seuils varient selon la condition et la variable considérée. Ainsi, dans le sol non contaminé, un seuil plus élevé est observé pour les modifications de

conductivité que pour celles de la croissance des plantes. L'inverse est constaté dans le sol contaminé. La présence de ces seuils pourrait être liée à la capacité tampon du sol et à la relation entre la quantité de sol ingéré par un vers de terre et son poids. En effet, le sol dispose de mécanismes de rétroaction négative, permettant de maintenir ses caractéristiques et son fonctionnement stable face à des modifications (Duchaufour et al., 2018 ; Girard et al., 2005b). D'autre part, les vers de terre peuvent modifier les caractéristiques du sol en ingérant une grande quantité de celui-ci (Blouin et al., 2013). Cependant, la quantité de sol ingéré est directement proportionnelle au poids des vers de terre. Ils ingèrent entre 1 g et 1.5 g de sol frais par gramme de ver, en fonction de la richesse en matière organique du sol, de l'espèce de vers de terre et de la résistance mécanique du sol (Arrazola-Vasquez et al., 2022). Par conséquent, une réduction du poids des vers de terre entraînerait une diminution de la quantité de sol ingéré, créant un double effet de la contamination, qui affecte à la fois le poids et l'activité des vers de terre (Liu et al., 2020).

4.3 CONCLUSION PARTIELLE

Malgré la présence de contaminants, les juvéniles incubés dans le sol CHV ont réussi à compléter leur cycle de développement, atteignant la maturité et produisant assez de cocons viables pour soutenir la génération suivante. Cela constitue un résultat prometteur, indiquant que plusieurs générations successives de vers de terre peuvent tolérer une exposition à une faible contamination. De plus, les vers de terre sont capables d'interagir avec les plantes, modifiant le fonctionnement du sol et améliorant la croissance des plantes, dès lors que leur biomasse totale dans le sol dépasse un certain seuil. L'intensité de leurs effets sur les paramètres du sol dépend tant de la biomasse totale en vers de terre que des caractéristiques intrinsèques du sol. En revanche, leur impact sur la croissance des plantes est exclusivement dépendant de la présence des vers de terre. Il est identique à celui observé en sol non contaminé lorsque la biomasse en vers de terre dépasse 1 000 mg par cosme. En dessous de ce seuil, une expression partielle est observée, avec une amélioration de la croissance des plantes moins importante et proportionnelle au poids des vers de terre.

Chapitre 4 : Maintien de l'interaction entre les vers de terre et les plantes sur une longue période de temps

Cependant, des effets sublétaux sont également présents. Une baisse de la longévité, du poids des vers de terre, et un allongement du temps nécessaire pour atteindre le stade adulte sont observés. De même, la reproduction est affectée, avec un taux de production et d'éclosion des cocons inférieurs à ceux de l'élevage de référence. De plus, une dégradation des indicateurs, notamment du poids, est constatée au fil des générations. Cela révèle une fragilité de la population de vers de terre en sol contaminé, qui pourrait compromettre sa viabilité à long terme si ces tendances se maintiennent.

Enfin, alors que la présence de plantes n'a pas d'impact sur le développement des vers de terre dans l'élevage de référence, elle favorise un meilleur développement en sol contaminé. Cela se traduit par un poids plus élevé, une meilleure longévité et un taux d'éclosion plus important des cocons. Bien que les mécanismes sous-jacents ne soient pas élucidés par cette étude, les résultats démontrent néanmoins l'existence d'une rétroaction positive des plantes sur les vers de terre, hypothèse largement supposée dans la littérature.

Dans le prochain chapitre, nous étudierons le rôle joué par le sol dans la médiation de l'interaction ver de terre – plante en exploitant les résultats d'une expérience *ex-situ* en pot utilisant le sol contaminé (CHV) préalablement travaillé ou non par les vers de terre.

5. CHAPITRE 5 : HERITAGE DE L'ACTIVITE DES VERS DE TERRE SUR LE SOL

Dans ce chapitre, nous allons nous intéresser au rôle que joue le sol dans la médiation de l'interaction entre les vers de terre et les plantes (Expérience D, Chapitre 2). Cette expérience vise à comprendre l'importance du sol dans l'interaction ver de terre - plante. Pour cela, nous avons cherché à savoir si les modifications des fonctions du sol par les vers de terre persistent après leur retrait, ainsi que leurs effets sur la croissance des plantes (Fig. 5.0). Ce chapitre vise donc à vérifier deux hypothèses : 1/ les modifications du sol induites par les vers de terre sont durables dans le temps après le retrait de ces derniers et 2/ ces effets résiduels permettent une augmentation de la croissance des plantes, se manifestant par une augmentation du poids de la partie aérienne. Nous étudierons donc les flux nutritifs et de contaminants induits par les vers de terre, malgré leur retrait, ainsi que leurs effets sur la croissance des plantes.

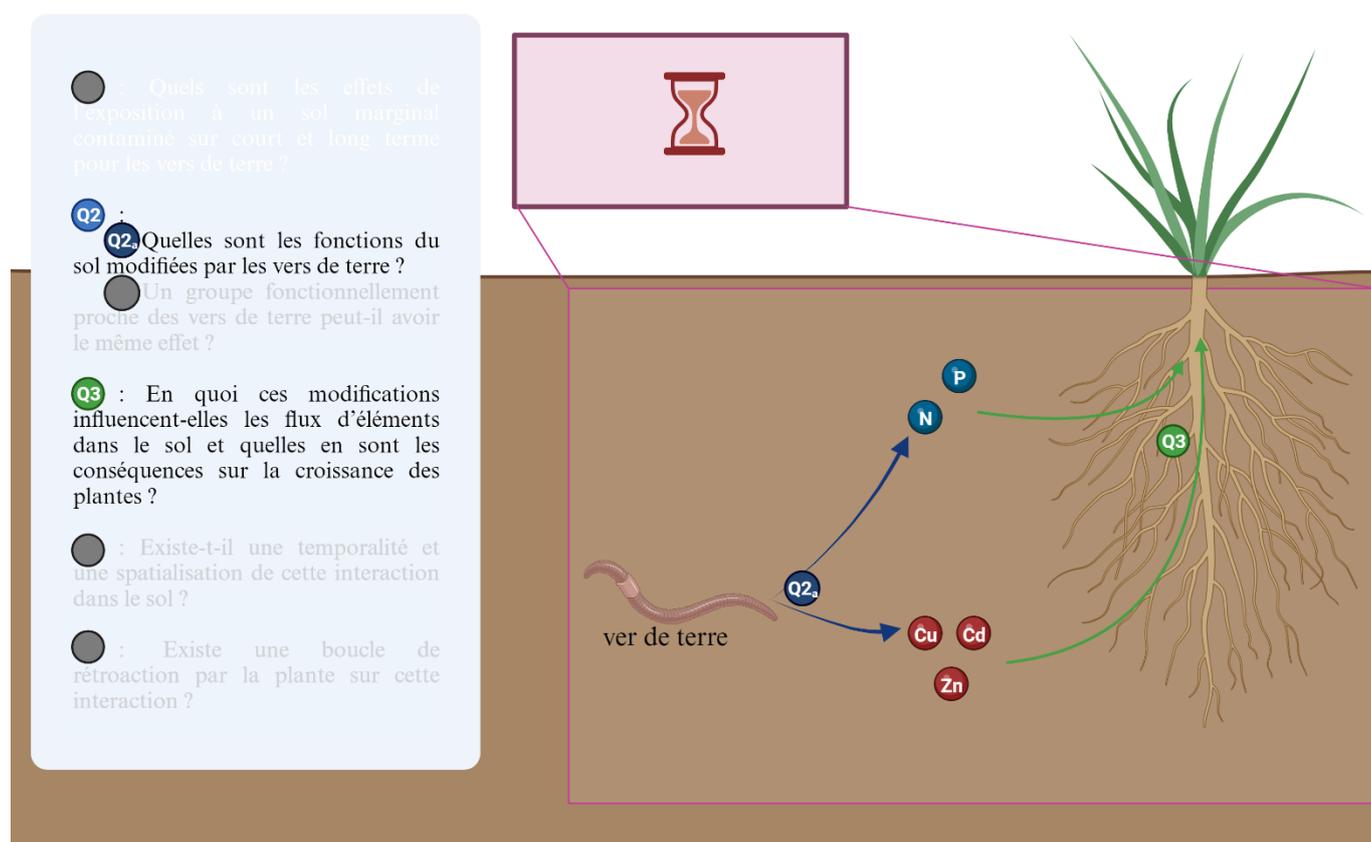


Figure 5.0 : Schéma conceptuel des questions du chapitre 5

Chapitre 5 : Héritage de l'activité des vers de terre sur le sol

Ce chapitre exploite les résultats obtenus lors de la partie consacrée aux vers de terre de l'expérience D. Cette expérience ex-situ se décompose en deux phases d'incubation de deux mois chacune. Durant la première phase, des cosmes avec ou sans vers de terre (10 vers par cosme) dans le sol d'étude CHV ont été incubés dans une chambre expérimentale. À la suite de cette première phase d'incubation, les vers de terre et leurs cocons ont été retirés du sol. Chaque groupe de 10 cosmes a ensuite été divisé en deux sous-groupes de cinq cosmes. Le premier sous-groupe a été laissé nu et le second a été planté avec 12 graines de *L. perenne* par cosme. Ces cosmes ont également été incubés pendant 2 mois dans la chambre expérimentale.

À la fin de la première phase d'incubation en présence de vers de terre, ces derniers ont été retirés, de même que les cocons produits dans les sols. À l'issue de la seconde phase d'incubation, un inventaire a été réalisé dans chaque cosme afin de valider l'efficacité du retrait des annélides. Un seul vers de terre juvénile a été découvert dans un cosme de la condition Ea-S. Dans tous les autres cosmes, aucun adulte, juvénile ou cocon n'a été dénombré. Ces résultats confirment ainsi la validité de notre dispositif expérimental.

Tableau 5.1 : Paramètres physico-chimiques du sol . Les différences significatives (Wilcoxon : $p < 0.05$ pour le pH du sol , ; Tukey-HSD : $p < 0.05$ pour la conductivité du sol) entre les valeurs sont représentées par différentes lettres pour chaque mesure. Les données sont présentées sous la forme valeur moyenne \pm écart-type ($n = 5$).

Condition	pH		Conductivité (μS)	
	T_0	T_f	T_0	T_f
S-S	7.65 \pm 0.14 (a)	7.45 \pm 0.16 (a)	116.33 \pm 3.20 (a)	106.51 \pm 3.23 (b)
Ea-S	7.12 \pm 0.09 (b)	7.12 \pm 0.13 (b)	166.46 \pm 4.68 (c)	119.52 \pm 2.90 (a)
S-L	7.57 \pm 0.09 (a)	8.72 \pm 0.17 (c)	123.09 \pm 5.50 (a)	97.69 \pm 4.19 (d)
Ea-L	7.13 \pm 0.05 (b)	8.54 \pm 0.20 (c)	173.55 \pm 4.34 (c)	92.98 \pm 3.62 (d)

5.1 EVOLUTION DES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DU SOL ET DE L'EAU INTERSTITIELLE APRES LE RETRAIT DES VERS DE TERRE

5.1.1 Résultat : Evolution du pH et de la conductivité du sol

Les valeurs de pH et de conductivité du sol sont présentées dans le tableau 5.1.

Tout d'abord, les valeurs initiales de pH et de conductivité du sol diffèrent entre les conditions où le sol n'a pas été travaillé par les vers de terre et celles où il a été préalablement travaillé par les annélides. Ainsi, les valeurs initiales de pH pour les conditions Ea-S et Ea-L (pH Ea-S : 7.12 ; pH Ea-L : 7.13) sont significativement plus basses que celles des conditions S-S et S-L (pH S-S : 7.65 ; pH S-L : 7.57) (Wilcoxon : $p < 0.05$). À l'inverse, les valeurs initiales de conductivité du sol sont significativement plus élevées dans les conditions travaillées par les vers de terre (conductivité Ea-S : 166.46 μS ; conductivité Ea-L : 173.55 μS) comparées à celles mesurées dans les conditions témoins (conductivité S-S : 116.33 μS ; conductivité S-L : 123.09 μS) (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Aucune différence significative n'a été observée au sein des deux groupes respectifs Ea-S / Ea-L et S-S / S-L pour les valeurs initiales de pH et de conductivité (Wilcoxon : $p > 0.05$; Tukey-HSD : $p > 0.05$).

Au cours de la seconde incubation, la présence ou l'absence de plantes a influencé l'évolution du pH et de la conductivité sur une période de deux mois. En présence de plantes, une augmentation du pH a été observée (pH S-L : 8.72 ; pH Ea-L : 8.54 ; Wilcoxon : $p < 0.05$), tandis qu'en l'absence de plantes, les valeurs de pH sont restées stables pendant les deux mois d'incubation (pH S-S : 7.45 ; pH Ea-S : 7.12 ; Wilcoxon : $p > 0.05$). Concernant la conductivité, une diminution significative entre les valeurs initiales et finales a été observée pour les quatre conditions (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Cependant, une réduction plus marquée a été constatée en présence de plantes (Tukey-HSD : $p < 0.05$), avec des valeurs finales inférieures à 100 μS pour les conditions S-L et Ea-L, tandis que pour les conditions S-S et Ea-S, les valeurs finales étaient respectivement de 106.51 μS (S-S) et de 119.52 μS (Ea-S).

5.1.2 Résultats : Évolution du pH, de la conductivité et du carbone organique dissous de l'eau interstitielle

L'évolution du pH, de la conductivité et du carbone organique dissous, mesurée toutes les deux semaines, est présentée sur la Figure 5.1.

L'évolution du pH de l'eau interstitielle du sol (Fig 5.1.A) suit le même schéma que celui du sol, avec des valeurs similaires. Concernant les valeurs initiales, un pH significativement plus bas a été mesuré dans les conditions préalablement travaillées par les vers de terre (pH Ea-S : 7.03 ; pH Ea-L : 7.13) comparativement aux conditions témoins (pH S-S : 7.74 ; pH S-L : 7.71) (Tukey-HSD : $p < 0.05$). En revanche, des valeurs initiales significativement plus élevées de conductivité et de carbone organique dissous ont été mesurées dans l'eau interstitielle des sols travaillés par les vers de terre (Ea-S - conductivité : 601.51 μS , COD : 66.46 mg.L^{-1} ; Ea-L : conductivité : 607.19 μS , COD : 73.55 mg.L^{-1}) en comparaison avec les sols sans inoculation (S-S - conductivité : 428.50 μS , COD : 46.33 mg.L^{-1} ; S-L : conductivité : 425.31 μS , COD : 43.09 mg.L^{-1}) (conductivité - Wilcoxon : $p < 0.05$; COD - Tukey-HSD : $p < 0.05$).

Le pH dans les conditions sans plantes (S-S ; Ea-S) est resté stable au cours des deux mois d'incubation (Tukey-HSD : $p > 0.05$), avec de faibles variations au cours de l'expérimentation (0.2 unité de pH pour la condition S-S et 0.05 unité de pH pour la condition Ea-S). En présence de plantes, le pH de l'eau interstitielle a augmenté progressivement à partir de la quatrième semaine (Tukey-HSD : $p < 0.05$), atteignant un pH de 8.34 pour la condition S-L et un pH de 8.32 pour la condition Ea-L. À la fin des deux mois d'incubation, aucune différence significative n'a été observée entre les conditions S-L et Ea-L (Tukey-HSD : $p > 0.05$), alors que la différence entre les conditions S-S et Ea-S est toujours présente (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Pour les conditions S-L et Ea-L, une stabilisation des valeurs a été observée à partir de la sixième semaine (Tukey-HSD : $p > 0.05$).

Une importante diminution de la conductivité d'au moins 70 % a été observée pour toutes les conditions entre le début et la fin de l'expérimentation (Wilcoxon : $p < 0.05$). Les plus fortes diminutions ont été observées en présence de plantes, avec 87 % pour la condition S-L et 93 % pour la condition Ea-L, la conductivité passant de 425.31 μS (T_0) à 53.38 μS (T_F) pour la condition

S-L et de 607.19 μS (T_0) à 49.63 μS (T_F) pour la condition Ea-L. Aucune différence significative n'a été observée entre les valeurs finales des conditions S-L et Ea-L (Wilcoxon : $p > 0.05$). En absence de plantes (S-S et Ea-S), une diminution respective de 72 % et 71 % a été observée, avec des valeurs passant de 428.50 μS à 112.59 μS (S-S) et de 601.51 μS à 174 μS (Ea-S). Ainsi, à la fin de l'expérimentation, la conductivité de l'eau interstitielle du sol de la condition Ea-S était significativement supérieure à celle de la condition S-S (Wilcoxon : $p < 0.05$). De plus, les valeurs finales des conditions sans plantes (S-S et Ea-S) étaient significativement supérieures à celles des conditions avec plantes (S-L et Ea-L) (Wilcoxon : $p < 0.05$). En termes de cinétique, une diminution significative a été observée dès la deuxième semaine pour les quatre conditions (Wilcoxon : $p < 0.05$). Une stabilisation des valeurs a été notée pour les conditions S-S, S-L et Ea-L à partir de la sixième semaine, avec absence de différences significatives entre ces valeurs et celles de la huitième semaine (T_F) (Wilcoxon : $p > 0.05$). En revanche, une baisse de la conductivité de l'eau interstitielle du sol a été mesurée tout au long de l'expérimentation et ce, jusqu'à la huitième semaine (T_F) pour la condition Ea-S (Wilcoxon : $p < 0.05$).

La teneur en carbone organique dissous dans l'eau interstitielle a globalement diminué dans les différentes conditions entre le début et la fin de l'expérimentation. Toutefois, la baisse de 21 % pour la condition S-S et de 25 % pour la condition Ea-S n'est pas significative (Tukey-HSD : $p > 0.05$), avec des concentrations diminuant de 10 mg.L^{-1} pour la condition S-S et de 17 mg.L^{-1} pour la condition Ea-S. Pour les conditions S-L et Ea-L, une diminution plus importante a été observée, avec une baisse de 35 mg.L^{-1} (S-L) et 61 mg.L^{-1} (Ea-L) (Tukey-HSD : $p < 0.05$) tout au long des huit semaines.

5.1.3 Discussion : Persistance des modifications du sol par les vers de terre

Tout d'abord, il est à noter que les valeurs initiales des différentes conditions sont proches des valeurs finales observées dans la partie 3.2. La présence de vers de terre avait entraîné une acidification du pH du sol et de l'eau interstitielle, avec des valeurs avoisinant 7. En revanche, la présence de plantes a provoqué une alcalinisation du sol et de l'eau interstitielle, avec des valeurs

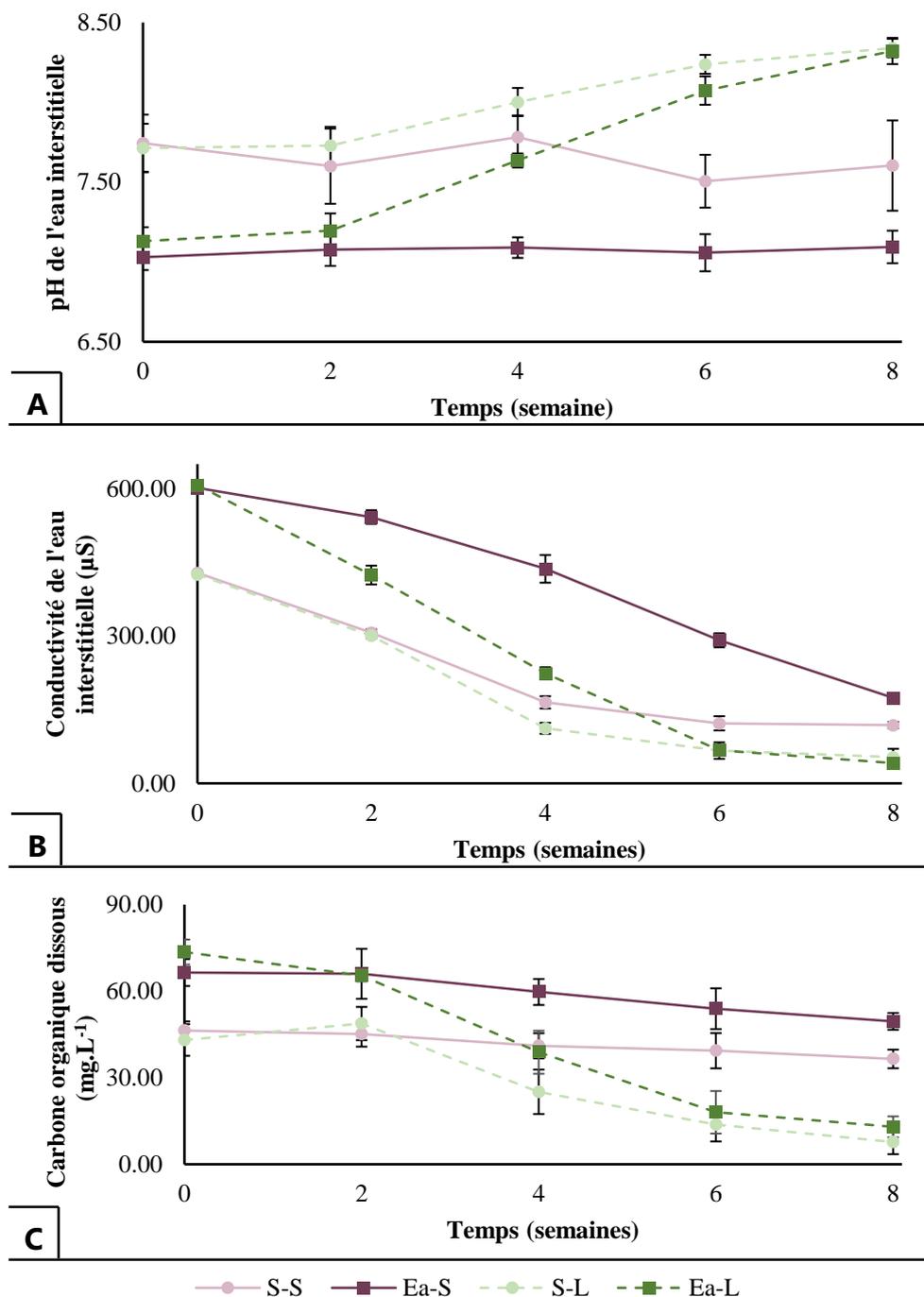


Figure 5.1 : Évolution du pH (A), de la conductivité (en μS) (B) et de la concentration en carbone organique dissous (en mg.L^{-1}) (C) dans l'eau interstitielle, extraite toutes les deux semaines.

supérieures à 8. De même, la présence de plantes avait induit une diminution significative des valeurs de conductivité et de la concentration du carbone organique dissous dans l'eau

interstitielle du sol, avec des valeurs proches de 50 μS pour la conductivité et inférieures à 20 mg.L^{-1} pour le carbone organique dissous.

Les modifications des caractéristiques physico-chimiques induites par les vers de terre restent perceptibles après deux mois d'incubation, même lorsque le sol est laissé nu (en absence de plantes). Les mécanismes derrière ces modifications de pH par les vers de terre étant encore mal compris (Sizmur & Hodson, 2009), il est difficile d'expliquer la persistance de ces effets. Cependant, l'augmentation de la conductivité du sol et de l'eau interstitielle, ainsi que celle du carbone organique dissous, résulte en grande partie de la dégradation de la matière organique par les microorganismes, un processus favorisé par la bioturbation des vers de terre (Bailey et al., 2019 ; Dashko & Shidlovskaya, 2016). Ces résultats sont principalement dus aux modifications de l'activité microbienne par les vers de terre (Bailey et al., 2019). L'augmentation durable de l'accès à la matière organique (Bailey et al., 2019) et la stabilité des agrégats et des turricules formés par les vers de terre (Bottinelli et al., 2010 ; Marashi & Scullion, 2003 ; Parle, 1963) pourraient permettre aux communautés microbiennes de perdurer dans le sol, même après le retrait des annélides (Dominguez et al., 2021 ; Blouin et al., 2013). En présence de système racinaire, cependant, c'est ce dernier qui influence principalement l'évolution des caractéristiques du sol.

Toutefois, deux tendances distinctes sont observées pour les différents indicateurs. Le pH montre une grande stabilité dans le temps suite au travail du sol par les vers de terre. Par contre, la conductivité, qu'elle concerne le sol ou l'eau interstitielle, tend à diminuer avec le temps. Dans la solution du sol, bien qu'elle reste supérieure à celle de la condition de référence S-S, l'écart entre les conditions Ea-S et S-S tend à se réduire, suggérant une possible convergence à plus long terme. Une tendance similaire est observée pour le carbone organique dissous, ce qui suggère que les micro-habitats et ressources alimentaires créés par les vers de terre, et qui sont favorables aux microorganismes, pourraient finir par s'épuiser ou disparaître (Bailey et al., 2019 ; Blouin et al., 2013).

La présence de plantes entraîne une évolution totale du système vers un nouvel équilibre. Comme évoqué dans le chapitre 3, la sécrétion de protons, de bicarbonate ou d'acides organiques par les plantes facilite l'absorption des nutriments et maintient un pH systolique stable (Bravin et al., 2008). L'excrétion de bicarbonate pourrait être responsable de l'alcalinisation observée du sol. Le système racinaire est également un site de forte colonisation par les microorganismes (Mimmo et al., 2018 ; York et al., 2016), ce qui pourrait contribuer à la diminution de la concentration du carbone organique dissous (Girard et al., 2005b).

5.2 ÉVOLUTION DES FLUX NUTRITIFS APRES LE RETRAIT DES VERS DE TERRE

5.2.1 Disponibilité environnementale des nutriments

La disponibilité environnementale des nutriments est estimée à travers deux indicateurs : les teneurs dans les extraits CaCl_2 du sol (Figure 5.2) et dans l'eau interstitielle du sol (Figure 5.3).

i. Résultat : Concentration en azote et phosphore dans les extraits CaCl_2

Pour commencer, en ce qui concerne les valeurs initiales dans les extraits CaCl_2 , des teneurs significativement plus élevées ont été mesurées dans les sols préalablement travaillés par des vers de terre (Ea-S et Ea-L) en comparaison avec les sols témoins (S-S et S-L) (N- CaCl_2 : $p < 0.05$, Tukey-HSD ; P- CaCl_2 : $p < 0.05$; Wilcoxon). Ainsi, les valeurs initiales d'azote dans les extraits CaCl_2 pour les conditions Ea-S et Ea-L sont respectivement 2.5 et 2.4 fois supérieures à celles des conditions S-S et S-L, tandis qu'un facteur de 1.4 et 1.5 est observé pour les valeurs de phosphore. Après deux mois d'incubation, une légère diminution des valeurs d'azote dans les extraits CaCl_2 a été enregistrée pour les conditions Ea-S et Ea-L, avec une baisse respective de 19 % (Tukey-HSD : $p < 0.05$) et 6 % (Tukey-HSD : $p > 0.05$). En revanche, les valeurs sont restées stables pour les conditions S-S et S-L (Tukey-HSD : $p > 0.05$). Aucun changement significatif n'a été observé pour les valeurs de phosphore dans les extraits CaCl_2 entre le début et la fin de l'expérimentation (Tukey-HSD : $p > 0.05$).

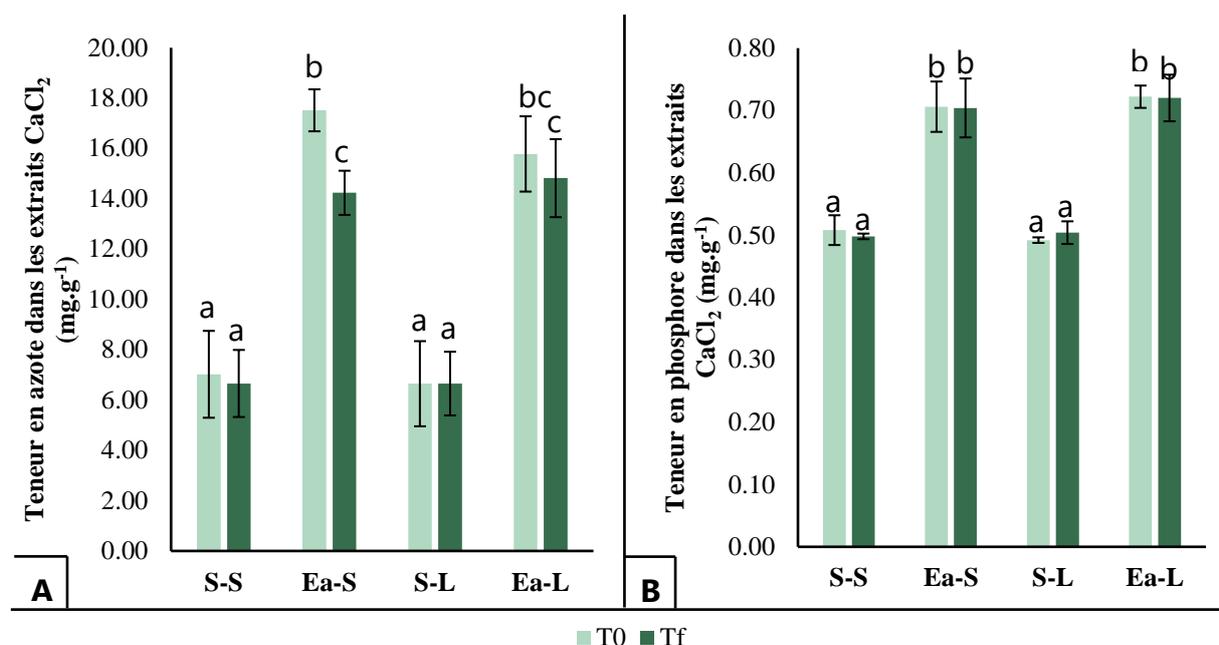


Figure 5.2 : Estimation de la disponibilité environnementale de l'azote et du phosphore à travers le dosage de la fraction extractible par une solution de CaCl₂ sur des échantillons de sols secs (A : azote ; B : phosphore), collectés au début (T₀) et à la fin de l'expérimentation (T_f). Les différences significatives sont indiquées par différentes lettres pour les teneurs dans les extraits CaCl₂ (p < 0.05 ; N : Tukey-HSD ; P : Wilcoxon).

ii. Résultat : Concentration en azote et phosphore dans l'eau interstitielle du sol

Les concentrations d'azote et de phosphore mesurées toutes les deux semaines dans l'eau interstitielle montrent deux tendances différentes. Les concentrations initiales d'azote et de phosphore dans l'eau interstitielle sont plus élevées dans les sols travaillés par les vers de terre (Ea-S - N : 1 068.23 mg.L⁻¹, P : 6.40 mg.L⁻¹ ; Ea-L - N : 1 110.41 mg.L⁻¹, P : 6.69 mg.L⁻¹) comparativement à celles des sols témoins (S-S - N : 434.21 mg.L⁻¹, P : 5.38 mg.L⁻¹ ; S-L - N : 397.04 mg.L⁻¹, P : 5.26 mg.L⁻¹) (N : Wilcoxon p < 0.05 ; P : Tukey-HSD < 0.05). Pour l'azote, une diminution des concentrations a été constatée dans les quatre conditions entre le début et la fin de l'incubation (Wilcoxon : p < 0.05). Alors que des baisses de 24 % et 19 % sont observées pour les conditions S-S et Ea-S, les valeurs tombent en dessous de 0.5 mg.L⁻¹ pour les conditions S-L et Ea-L, ce qui correspond à une réduction de pratiquement 100 % (Wilcoxon p < 0.05). En présence de plantes, une diminution des concentrations en phosphore dans l'eau interstitielle a aussi été notée, avec une baisse de 1.72 mg.L⁻¹ (S-L) et 3.25 mg.L⁻¹ (Ea-L) (Tukey-HSD : p < 0.05). Cette réduction a été constatée durant les six premières semaines (Tukey-HSD : p < 0.05) avant de se stabiliser (Tukey-HSD : p > 0.05). En l'absence de plantes, la concentration en phosphore a

Chapitre 5 : Héritage de l'activité des vers de terre sur le sol

augmenté dans la condition Ea-S de 0.75 mg.L^{-1} (Tukey-HSD : $p < 0.05$), alors que celle de la condition S-S est demeurée stable tout au long de l'expérimentation.

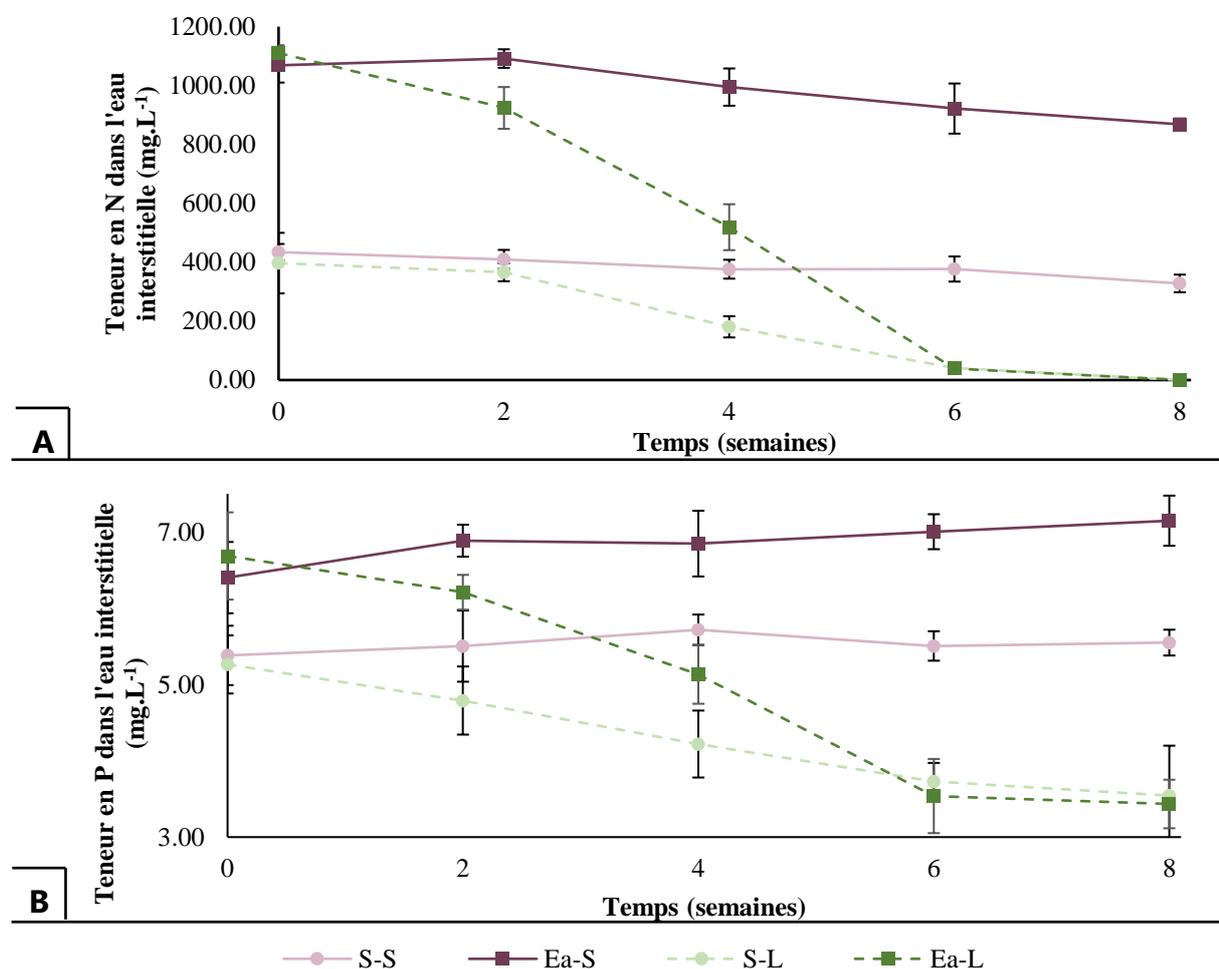


Figure 5.3 : Estimation de la disponibilité environnementale de l'azote et du phosphore à travers le dosage de l'azote (A) et du phosphore (B) dans l'eau interstitielle du sol, récoltée par des rhizon samplers toutes les deux semaines.

5.2.2 Biodisponibilité environnementale des nutriments

La biodisponibilité environnementale du phosphore est estimée à travers trois mesures : une extraction DGT sur des échantillons de sols frais, la concentration en phosphore dans les parties aériennes des plantes, et enfin la minéralomasse en phosphore de ces mêmes parties. La biodisponibilité environnementale de l'azote est quant à elle évaluée par la concentration en azote des parties aériennes des plantes et par la minéralomasse en azote de ces parties. Ces résultats sont présentés dans le tableau 5.2.

À l'instar des concentrations mesurées dans les extraits de CaCl₂ et l'eau interstitielle, les teneurs initiales de phosphore extractibles par DGT sont plus élevées dans les sols travaillés par les vers de terre que dans ceux incubés en leur absence, avec des valeurs presque deux fois supérieures (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Durant les deux mois d'incubation, les teneurs extractibles sont restées stables dans les conditions S-S, S-L et Ea-S, affichant des valeurs finales proches des valeurs initiales (Tukey-HSD : $p > 0.05$). Pour la condition Ea-L, une diminution de 14 % a été notée (Tukey-HSD : $p < 0.05$).

Tableau 5.2 : Estimation de la biodisponibilité de l'azote et du phosphore à travers les teneurs en phosphore extraites par DGT sur des échantillons de sol frais collectés au début (T_0) et à la fin de l'expérimentation (T_f), ainsi que les concentrations accumulées en azote et en phosphore dans les feuilles des plantes et leur minéralomasse. Les valeurs sont présentées sous la forme de la valeur \pm écart-type. Les différences significatives sont représentées par des lettres différentes pour chaque mesure et espèce chimique ($p < 0,05$; DGT-P : Tukey-HSD ; concentration N : test t ; concentration P : test t ; minéralomasse N : Wilcoxon ; minéralomasse P : test t).

Nutriment	Condition	Teneur dans les extraits DGT ($\mu\text{g}\cdot\text{sampler}^{-1}$)		Teneur dans les parties aériennes	
		T_0	T_f	Concentration ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	Minéralomasse ($\text{mg}\cdot\text{plante}^{-1}$)
N	S-L			55.00 \pm 0.56 (a)	13.21 \pm 1.78 (a)
	Ea-L			56.48 \pm 1.28 (b)	19.74 \pm 4.25 (b)
P	S-S	242.92 \pm 13.16 (a)	251.48 \pm 6.85 (a)		
	Ea-S	415.75 \pm 425.34 (b)	425.34 \pm 5.42 (b)		
	S-L	209.37 \pm 7.34 (d)	203.94 \pm 9.75 (d)	3.61 \pm 0.32 (a)	0.87 \pm 0.14 (a)
	Ea-L	419.98 \pm 5.36 (b)	360.67 \pm 6.97 (e)	4.89 \pm 0.29 (b)	1.71 \pm 0.37 (b)

Dans les plantes, une hausse de 35 % de la concentration en phosphore (S-L : 3.61 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$; Ea-L : 4.89 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$; test t : $p < 0.05$) ainsi qu'une minéralomasse presque double (S-L : 0.87 $\text{mg}\cdot\text{plante}^{-1}$; Ea-L : 1.71 $\text{mg}\cdot\text{plante}^{-1}$; test t : $p < 0.05$) ont été observées lorsque les plantes sont cultivées sur un sol préalablement travaillé par les vers de terre (Ea-L), en comparaison avec celles

cultivées sur un sol non travaillé (S-L). De même, une augmentation de la concentration en azote de 1.48 mg.g^{-1} (S-L : 55.00 mg.g^{-1} ; Ea-L : 56.48 mg.g^{-1} ; test t : $p < 0.05$) ainsi qu'une augmentation de 50 % de la minéralomasse (S-L : $13.21 \text{ mg.plante}^{-1}$; Ea-L : $19.74 \text{ mg.plante}^{-1}$; Wilcoxon : $p < 0.05$) ont été relevées dans les conditions Ea-L comparées à S-L.

5.2.3 Discussion : Persistance de l'effet des vers de terre sur les flux de nutriments

Que ce soit pour l'azote ou le phosphore, l'effet des vers de terre, malgré leur retrait, reste toujours présent avec une augmentation des flux d'éléments nutritifs vers les plantes, se traduisant par une augmentation des concentrations dans les feuilles ainsi qu'une minéralomasse plus importante.

Pour le phosphore, les changements de disponibilité environnementale et de biodisponibilité environnementale sont stables dans le temps avec des teneurs extractibles (solution du sol, CaCl_2 et DGT) constantes entre le début et la fin de l'incubation, suggérant des modifications profondes et durables. En revanche, les teneurs extractibles pour l'azote (solution du sol et CaCl_2) diminuent progressivement au cours de l'incubation, indiquant une disparition lente de l'empreinte des vers de terre sur le sol pour cet indicateur. Toutefois, les concentrations après deux mois, restant au-dessus de celles du contrôle (Ea-S), ne permettent pas de prévoir si les effets finiront par totalement disparaître ou se stabiliser à un niveau intermédiaire.

Les plantes, quant à elles, viennent puiser dans les ressources de la solution, provoquant de fortes baisses des concentrations en azote et phosphore dans l'eau interstitielle (Raguz et al., 2013), que le sol ait été travaillé ou non par les vers de terre, suggérant une absence de recharge de la solution du sol à partir de la phase solide. Alors que les indicateurs de disponibilité environnementale de l'azote et du phosphore, ainsi que la concentration du phosphore dans les extraits DGT (biodisponibilité environnementale), sont restés stables dans la condition S-L, ces derniers ont diminué dans la condition Ea-L. Ces résultats montrent une dégradation des effets des vers de terre au cours de la croissance des plantes, avec des valeurs finales toutefois supérieures à celles du contrôle Ea-S.

Ainsi, l'effet des vers de terre sur les flux nutritifs est toujours présent deux mois après leur retrait, montrant une stabilité de l'effet. Toutefois, dans nos conditions expérimentales, le temps et la présence de plantes viennent dégrader partiellement ces effets. Il reste toutefois à définir si les effets vont finir par se stabiliser ou totalement disparaître. Les plantes, quant à elles, puisent dans le pool d'éléments rendus disponibles par les vers de terre, mais leur absence ne permet pas à ce pool de se régénérer (Blouin et al., 2013).

L'origine de ces effets pourrait être liée à la formation de turricules par les vers de terre, disséminés un peu partout dans le sol (van Groenigen, 2019). Par l'ingestion de résidus organiques plus ou moins liés au sol (Curry & Schmidt, 2007 ; Bouché, 1977), les vers de terre opèrent ainsi des processus de concentration et de transformation des particules du sol et des composés organiques dans les turricules, notamment via leur microbiote intestinal (Vos et al., 2014 ; Drake & Horn, 2007 ; Decaëns et al., 1999 ; Brossard et al., 1996). Cela résulte en une augmentation de la minéralisation des éléments (N et P notamment) et une augmentation de la fertilité (van Groenigen et al., 2019). Toutefois, cette augmentation de la fertilité se dégrade également avec le temps, avec des baisses observées lorsque les turricules sont âgés de plus de sept jours. Les principaux mécanismes suggérés sont la dénitrification pour l'azote, l'immobilisation microbienne et la diffusion des éléments dans le sol autour des turricules (van Groenigen et al., 2019). Dans notre cas, nous ne séparons pas les turricules du sol les entourant; ainsi, les potentiels effets de concentration dans les turricules puis de diffusion dans le sol sont masqués par notre approche holistique du compartiment sol. Seuls les processus de transformations peuvent être évalués, suggérant alors une potentielle dénitrification pour l'azote, mais également une immobilisation des nutriments soit par les microorganismes, soit par les constituants du sol.

5.3 ÉVOLUTION DES FLUX D'ÉLÉMENTS TRACES METALLIQUES APRES LE RETRAIT DES VERS DE TERRE

5.3.1 Disponibilité environnementale des éléments traces métalliques

i. Résultats : Concentrations en éléments traces métalliques dans les extraits de CaCl₂.

Les teneurs en Cu, Zn et Cd ont été mesurées dans les échantillons de sol sec, initiaux et finaux. Les valeurs de Cd étaient sous la limite de quantification ($4.7 \mu\text{g.L}^{-1}$) pour la majorité des échantillons, ce qui les rendait non exploitables. Les valeurs de Cu et Zn sont présentées dans la Figure 5.4 (A et B).

Pour les deux ET (Cu et Zn), les valeurs initiales sont plus élevées dans les conditions Ea-S et Ea-L que dans les conditions S-S et S-L (Tukey-HSD : $p < 0.05$). En l'absence de plantes, les valeurs finales sont restées similaires aux valeurs initiales, avec des valeurs d'environ 0.25 mg.kg^{-1} de Cu extractible et de 0.60 mg.kg^{-1} de Zn extractible (Tukey-HSD : $p > 0.05$) pour la condition S-S, et de 0.30 mg.kg^{-1} de Cu extractible et de 1.20 mg.kg^{-1} de Zn extractible (Tukey-HSD : $p > 0.05$) pour la condition S-L. En présence de plantes, une diminution des teneurs extractibles est observée après deux mois (Tukey-HSD : $p < 0.05$), avec une teneur en Cu extractible d'environ 0.11 mg.kg^{-1} pour les conditions S-L et Ea-L, et d'environ 0.45 mg.kg^{-1} pour les teneurs en Zn extractible.

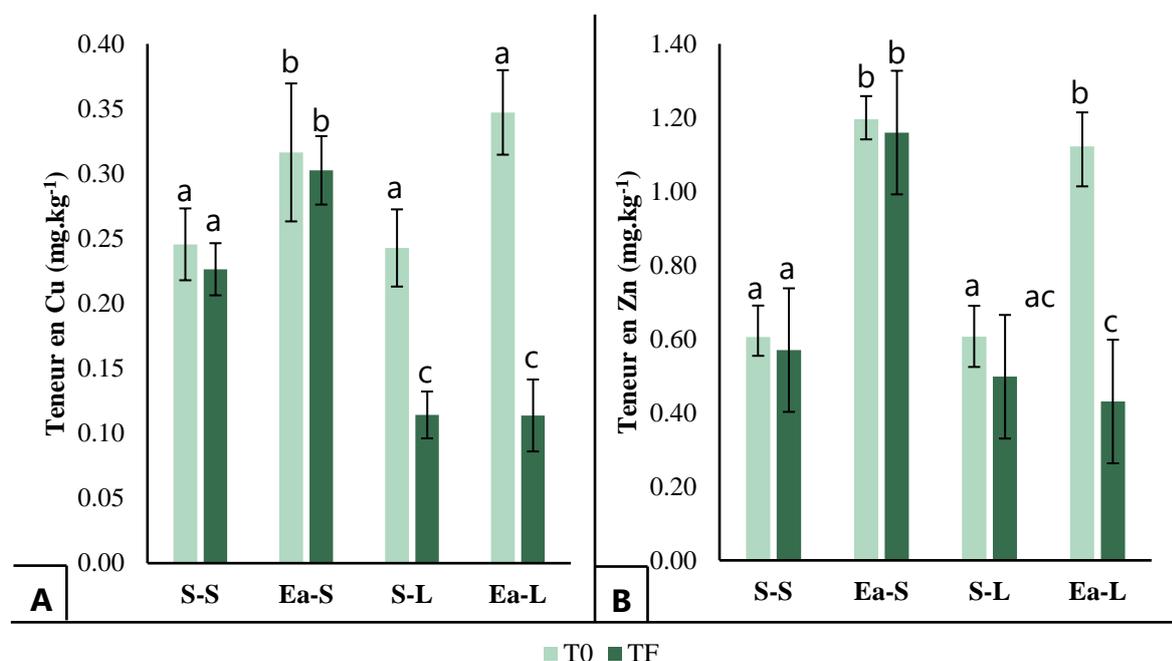


Figure 5.4 : Estimation de la disponibilité environnementale du cuivre et du zinc à travers le dosage de la fraction extractible par une solution de CaCl₂ dans des échantillons de sols secs (A : Cu ; B : Zn), collectés au début (T₀) et à la fin de l'expérimentation (T_f). Les teneurs en Cd étaient sous la limite de quantification pour un grand nombre d'échantillons. Les différences significatives sont indiquées par des lettres différentes pour les teneurs dans les extraits de CaCl₂ (Tukey-HSD : p < 0.05).

ii. Résultats : Concentrations en éléments traces métalliques dans l'eau interstitielle du sol.

Les teneurs en Cu, Zn et Cd ont été mesurées dans les échantillons d'eau interstitielle collectés toutes les deux semaines. Les valeurs de Cd étaient sous la limite de quantification (4.7 µg.L⁻¹) pour la majorité des échantillons et donc non exploitables. Les valeurs de Cu et Zn sont présentées dans la Figure 5.5 (A et B).

Les teneurs initiales en Cu et Zn sont plus élevées dans les sols travaillés par les vers de terre en comparaison avec celles des sols témoins (Tukey-HSD : p > 0.05). Pour le Cu, des augmentations de 20 % entre les conditions Ea-S (0.13 mg.L⁻¹) et S-S (0.11 mg.L⁻¹), et de 23 % entre Ea-L (0.13 mg.L⁻¹) et S-L (0.11 mg.L⁻¹) ont été observées. Pour le Zn, des augmentations de 92 % entre Ea-S (0.23 mg.L⁻¹) et S-S (0.12 mg.L⁻¹), et de 78 % entre Ea-L (0.23 mg.L⁻¹) et S-L (0.13 mg.L⁻¹) ont également été mesurées.

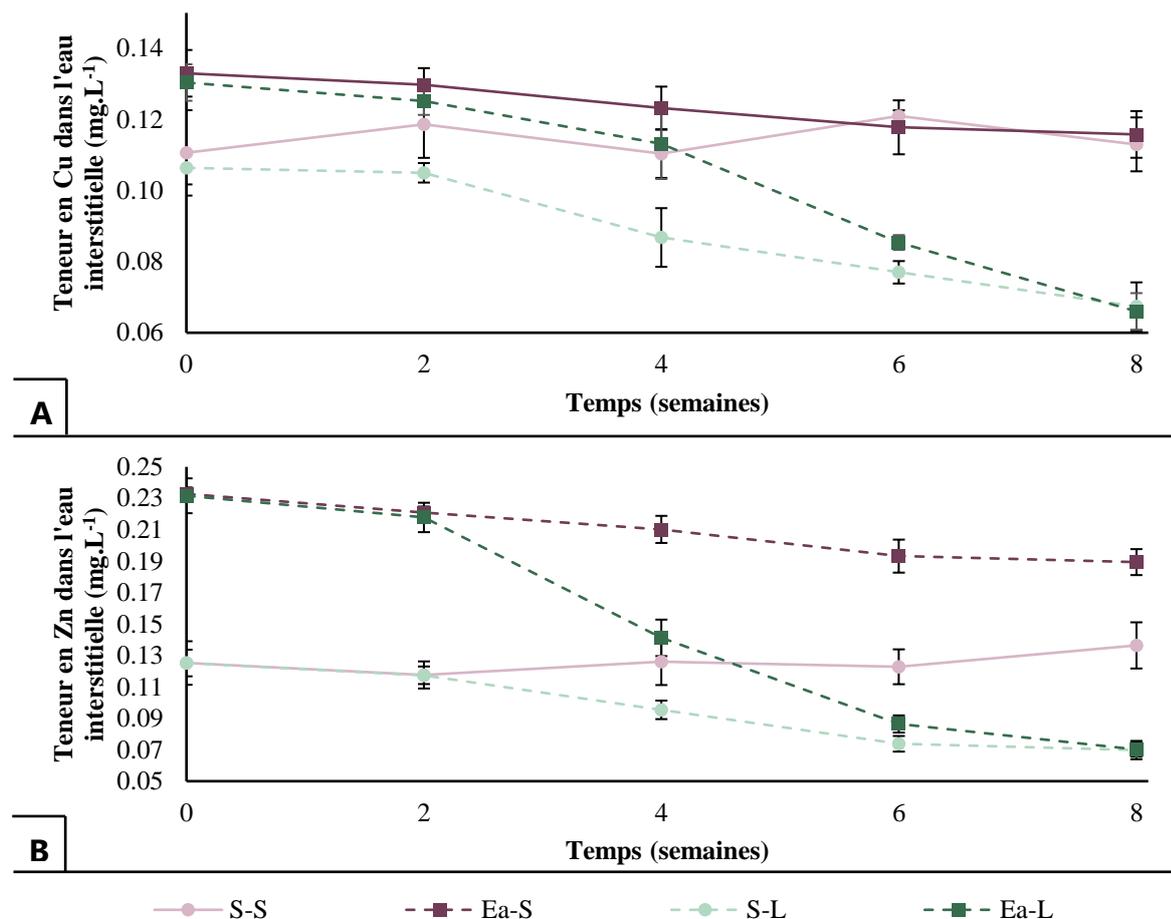


Figure 5.5 : Estimation de la disponibilité environnementale du cuivre et du zinc à travers le dosage du Cu (A) et du Zn (B) dans l'eau interstitielle du sol, récoltée par des rhizons samplers toutes les deux semaines. Les teneurs en Cd étaient sous la limite de quantification pour un grand nombre d'échantillons.

Pour le Cu, la teneur dans les échantillons d'eau interstitielle est restée constante dans la condition témoin S-S, avec des valeurs variant entre 0.11 et 0.12 mg.L⁻¹ (Tukey-HSD : $p > 0.05$). Dans la condition Ea-S, une diminution progressive dès la deuxième semaine est observée (Tukey-HSD : $p < 0.05$), avec des valeurs rejoignant celles de la condition S-S à partir de la sixième semaine (T₆ : 0.12 mg.L⁻¹ ; T_f : 0.12 mg.L⁻¹) (Tukey-HSD : $p > 0.05$). Dans les conditions en présence de plantes (S-L et Ea-L), une diminution est observée à partir de la quatrième semaine dans les deux conditions (Tukey-HSD : $p < 0.05$), pour atteindre la même valeur de 0.07 mg.L⁻¹ (S-L, Ea-L ; Tukey-HSD : $p > 0.05$).

Durant l'incubation de deux mois, les teneurs en Zn sont restées stables pour la condition S-S, avec des valeurs entre 0.12 et 0.14 mg.L⁻¹. Une diminution progressive de 19 % a été mesurée

dans la condition Ea-S, avec une concentration en Zn dans l'eau interstitielle passant de 0.23 mg.L⁻¹ à 0.19 mg.L⁻¹ (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Malgré cette diminution, les valeurs finales restent supérieures à celles de la condition S-S (Tukey-HSD : $p < 0.05$). En présence de plantes (S-L et Ea-L), une diminution des teneurs est observée entre la deuxième et la sixième semaine d'incubation, avec des valeurs qui atteignent et se stabilisent autour de 0.07 mg.L⁻¹ pour les deux conditions (Tukey-HSD : $p > 0.05$).

5.3.2 Biodisponibilité environnementale des éléments traces métalliques

La biodisponibilité environnementale des ET (Cu, Zn, Cd) est estimée à travers trois mesures : une extraction DGT sur des échantillons de sols frais, la concentration dans les parties aériennes des plantes et la minéralomasse des parties aériennes des plantes. Ces résultats sont présentés dans le tableau 5.2.

i. Résultats : teneurs extractibles par DGT, concentrations accumulées dans les parties aériennes et minéralomasses du cuivre.

Les teneurs initiales en cuivre extractibles par DGT ont augmenté de 65 % (Ea-S) et de 71 % (Ea-L) dans les sols préalablement travaillés par les vers de terre par rapport à celles dans les sols incubés en absence de vers de terre (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Au cours de l'incubation de deux mois, les teneurs extractibles sont restées stables dans les conditions S-S, S-L et Ea-S, avec des valeurs finales proches des initiales (Tukey-HSD : $p > 0.05$). Pour la condition Ea-L, une diminution de 14 % a été mesurée (Tukey-HSD : $p < 0.05$).

Dans les plantes, aucune augmentation significative de la concentration en cuivre n'a été mesurée (S-L : 15.84 $\mu\text{g.g}^{-1}$; Ea-L : 18.86 $\mu\text{g.g}^{-1}$; test-t : $p > 0.05$). En revanche, la minéralomasse a, quant à elle, augmenté de 75 % (S-L : 3.78 $\mu\text{g.plante}^{-1}$; Ea-L : 6.59 $\mu\text{g.plante}^{-1}$; Wilcoxon : $p < 0.05$) lorsque les plantes sont cultivées sur un sol travaillé par les vers de terre (Ea-L) par rapport à celles sur un sol non travaillé (S-L).

ii. Résultats : teneurs extractibles par DGT, concentrations accumulées dans les parties aériennes et minéralomasse du zinc.

Comme pour le cuivre, les valeurs de Zn extractibles par DGT sont plus élevées dans les sols travaillés par les vers de terre que dans ceux incubés en leur absence, avec des teneurs presque deux fois plus élevées (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Lors de l'incubation de deux mois, la teneur en Zn extractible par DGT dans la condition S-S a augmenté de 25 %, passant de $0.40 \mu\text{g.sampler}^{-1}$ (T_0) à $0.50 \mu\text{g.sampler}^{-1}$ (T_f) (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Une diminution de 15 % a été observée dans la condition Ea-S. En présence de plantes, une réduction des teneurs extractibles en Zn de 56 % et de 54 % a été notée pour les conditions S-L et Ea-S respectivement (Tukey-HSD : $p < 0.05$).

Une augmentation de 36 % de la concentration en zinc a été mesurée dans les plantes cultivées sur un sol travaillé par les vers de terre (Ea-L) en comparaison avec celles cultivées sur un sol non travaillé (S-L) (S-L : $132.73 \mu\text{g.g}^{-1}$; Ea-L : $180.31 \mu\text{g.g}^{-1}$; test-t : $p < 0.05$). La minéralomasse en zinc des plantes cultivées dans la condition Ea-L est également augmentée de 97 % par rapport à celle des plantes de la condition S-L (S-L : $31.82 \mu\text{g.plante}^{-1}$; Ea-L : $62.57 \mu\text{g.plante}^{-1}$; test-t : $p < 0.05$).

iii. Résultats : teneurs extractibles par DGT, concentrations accumulées dans les parties aériennes et minéralomasse du cadmium.

Les teneurs initiales extractibles par DGT en cadmium sont plus élevées dans les sols travaillés par les vers de terre que dans ceux incubés sans eux, avec une augmentation des teneurs de 50 % (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Pendant l'incubation de deux mois, les teneurs extractibles sont restées stables dans les conditions S-S et Ea-S, avec des valeurs finales proches des initiales (Tukey-HSD : $p > 0.05$). Pour les conditions S-L et Ea-L, des diminutions de 60 % (S-L) et 73 % (Ea-L) ont été observées (Tukey-HSD : $p < 0.05$).

Dans les plantes, la concentration en cadmium (S-L : $1.09 \mu\text{g.g}^{-1}$; Ea-L : $1.01 \mu\text{g.g}^{-1}$; test-t : $p > 0.05$) ainsi que la minéralomasse étaient quasiment identiques pour les deux conditions (S-L : $0.26 \mu\text{g.plante}^{-1}$; Ea-L : $0.36 \mu\text{g.plante}^{-1}$; test-t : $p > 0.05$).

Évolution des flux d'éléments traces métalliques après le retrait des vers de terre

Tableau 5.3 : Estimation de la biodisponibilité des ET (Cu, Zn, Cd) à travers les teneurs extraites par DGT sur des échantillons de sol frais collectés au début (T_0) et à la fin de l'expérimentation (T_f), ainsi que les concentrations accumulées dans les feuilles des plantes et leur minéralomasse. Les valeurs sont présentées sous la forme de la valeur moyenne \pm écart-type. Les différences significatives entre les groupes sont indiquées par des lettres différentes pour chaque mesure et espèce chimique ($p < 0.05$). Pour le cuivre (Cu), les analyses statistiques utilisées sont Tukey-HSD pour les mesures DGT, le t-test pour la concentration dans les feuilles et le test de Wilcoxon pour la minéralomasse. Pour le zinc (Zn), c'est Tukey-HSD pour les mesures DGT, le t-test pour la concentration dans les feuilles et la minéralomasse. Enfin, pour le cadmium (Cd), le test de Wilcoxon est utilisé pour les mesures DGT, la concentration dans les feuilles et la minéralomasse.

Élément	Condition	Teneur dans les extraits DGT ($\mu\text{g}\cdot\text{sampler}^{-1}$)		Teneur dans les parties aériennes	
		T_0	T_f	Concentration ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Minéralomasse ($\mu\text{g}\cdot\text{plante}^{-1}$)
Cu	S-S	0.06 \pm 0.01 (a)	0.06 \pm 0.01 (a)		
	Ea-S	0.09 \pm 0.01 (b)	0.09 \pm 0.01 (b)		
	S-L	0.06 \pm 0.01 (a)	0.06 \pm 0.01 (a)	15.84 \pm 1.80 (a)	3.78 \pm 0.38 (a)
	Ea-L	0.10 \pm 0.01 (b)	0.08 \pm 0.01 (c)	18.86 \pm 2.27 (a)	6.59 \pm 1.67 (b)
Zn	S-S	0.40 \pm 0.05 (a)	0.50 \pm 0.03 (b)		
	Ea-S	0.97 \pm 0.03 (c)	0.82 \pm 0.04 (d)		
	S-L	0.40 \pm 0.03 (a)	0.17 \pm 0.04 (e)	132.73 \pm 12.64 (a)	31.82 \pm 4.67 (a)
	Ea-L	0.96 \pm 0.04 (c)	0.44 \pm 0.04 (ab)	180.31 \pm 15.62 (b)	62.57 \pm 12.28 (b)
Cd	S-S	0.03 \pm 0.01 (a)	0.02 \pm 0.01 (a)		
	Ea-S	0.04 \pm 0.00 (b)	0.04 \pm 0.00 (b)		
	S-L	0.03 \pm 0.00 (a)	0.01 \pm 0.01 (c)	1.09 \pm 0.10 (a)	0.26 \pm 0.04 (a)
	Ea-L	0.04 \pm 0.00 (b)	0.01 \pm 0.01 (c)	1.01 \pm 0.26 (a)	0.36 \pm 0.13 (a)

5.3.3 Discussion : persistance de l'effet des vers de terre sur les flux d'éléments traces métalliques

Pour le Zn, le Cd, et le Cu, la disponibilité environnementale (CaCl_2 et eau interstitielle) ainsi que la biodisponibilité des ET (DGT) sont restées plus élevées dans les sols travaillés par les vers de terre (Ea-S) que dans les sols témoins (S-S). Les vers de terre modifient la disponibilité

environnementale et la biodisponibilité des ET par l'ingestion de sol et la formation de turricules (Sizmur & Hodson, 2009). Le travail horizontal des vers endogés favorise à la fois le dépôt de turricules dans l'intégralité du sol mais aussi leur mélange avec de nouveaux sols lors de la ré-ingestion des turricules (Sizmur & Richardson, 2020 ; Blouin et al., 2013). De par la stabilité de ces agrégats (Bottinelli et al., 2010 ; Marashi & Scullion, 2003 ; Parle, 1963), les effets des vers de terre peuvent persister dans le sol malgré leur absence (Sizmur & Richardson, 2020).

La présence de plantes induit une baisse de ces indicateurs de disponibilité et de biodisponibilité environnementale pour les trois ET étudiés (Cu, Zn et Cd) sur les sols préalablement travaillés par les vers de terre (Ea-L) et uniquement pour le Zn et le Cd sur les sols témoins (S-L). Trois facteurs, issus de la littérature, peuvent expliquer ces résultats. Premièrement, le système racinaire des plantes peut induire des modifications des caractéristiques physico-chimiques des sols, affectant ainsi la biodisponibilité des ET (voir 5.5). Deuxièmement, les vers de terre ne peuvent augmenter la disponibilité et la biodisponibilité que d'un pool limité d'éléments (Blouin et al., 2013). L'absorption de ces éléments par les plantes (Sizmur & Richardson, 2020) vient donc puiser dans ce pool rendu plus biodisponible. Or, en l'absence des vers de terre, ce pool ne se régénère pas, rendant l'effet transitoire, qui s'affaiblit au fur et à mesure que les plantes prélèvent les éléments de ce pool. Enfin, les plantes sont également capables de stimuler l'immobilisation des ET par l'exsudation de composés chélateurs (Anayanwu et al., 2018 ; Kızılkaya & Türkay, 2014), réduisant leur biodisponibilité.

Les teneurs en Cd et en Zn sont respectivement de deux et trois fois supérieures aux valeurs de fond naturel de référence pour les plantes non contaminées (Chaney, 2011 ; Harada & Hatanaka, 1998). Malgré ces dépassements, les teneurs restent en dessous des seuils de phytotoxicité aigus définis pour les plantes en général (Chaney, 1989), qui sont entre 500 et 1 500 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ pour le Zn et entre 5 et 30 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ pour le Cd.

5.4 RELATIONS ENTRE LES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES DU SOL, LA DISPONIBILITE ENVIRONNEMENTALE ET LA BIODISPONIBILITE DES ELEMENTS.

Les relations entre les propriétés physico-chimiques du sol, la disponibilité et la biodisponibilité environnementale des éléments ont été évaluées. Les résultats détaillés de ces analyses sont exposés dans le tableau 5.4.

Concernant l'azote, une corrélation négative marquée a été observée entre la concentration dans l'eau interstitielle et sa concentration dans la partie aérienne des plantes ($r = -0.92$, $p < 0.05$). Il existe également une corrélation positive significative entre la concentration d'azote soluble dans les extraits de CaCl_2 et celle dans l'eau interstitielle ($r = 0.88$, $p < 0.05$). Toutefois, ces concentrations d'azote montrent une faible corrélation négative avec le pH du sol et de l'eau interstitielle, ainsi qu'une corrélation légèrement positive avec le carbone organique dissous. Par ailleurs, une relation positive a été identifiée entre la concentration d'azote (eau interstitielle et extrait CaCl_2) et la teneur en carbone organique.

Pour le phosphore, les niveaux mesurés dans la partie aérienne des plantes affichent une forte corrélation négative avec ceux de l'eau interstitielle ($r = -0.88$, $p < 0.05$), tandis qu'une corrélation positive est notée avec les concentrations obtenues par les extraits DGT ($r = 0.92$, $p < 0.05$) et CaCl_2 ($r = 0.93$, $p < 0.05$). Les teneurs en phosphore, tant dans l'eau interstitielle que dans les extraits DGT, présentent une corrélation négative avec le pH, mais une faible corrélation positive avec le carbone organique dissous.

En ce qui concerne les ET, il a été constaté que les niveaux de Zn et de Cd, déterminés par les extraits de CaCl_2 , l'eau interstitielle et la technique DGT, montrent tous une corrélation négative avec le pH, avec des coefficients de corrélation variant de -0.77 à -0.93 . Les concentrations de Zn, en particulier, sont également corrélées positivement avec le carbone organique dissous, et les différentes mesures de la concentration en Zn sont fortement intercorrélées (r entre 0.91 et 0.92). La concentration de Zn dans les tissus végétaux affiche une corrélation négative avec celle dans l'eau interstitielle du sol ($r = -0.52$, $p < 0.05$), mais est fortement corrélée aux valeurs extraites par DGT ($r = 0.82$, $p < 0.05$), un schéma similaire étant observé pour le Cd ($r = 0.84$). Finalement, pour

Tableau 5.4 : Coefficient de corrélation de Pearson entre les caractéristiques du sol, de l'eau interstitielle du sol, la mobilité des ET et des nutriments, ainsi que la concentration interne dans les plantes. Les valeurs ne sont indiquées que si le coefficient de corrélation est significatif ($p < 0.05$), sinon n.s. est indiqué. n.m. indique des données et/ou une corrélation non mesurée.

Element	Mesure	Paramètre du sol		Paramètres de l' eau interstitielle		Disponibilité environnementale		Biodisponibilité environnementale	
		pH		pH	Carbone organique dissous	Eau interstitielle	DGT	Eau interstitielle	Teneur partie aérienne
N	CaCl ₂	-0.35		-0.37	0.47	0.61	n.m.	0.88	
	Eau interstitielle	-0.27		-0.32	n.s.	-	n.m.	-0.92	
P	CaCl ₂	n.s.		n.s.	0.37	0.31	n.s.	0.93	
	Eau interstitielle	-0.91		-0.57	0.48	-	0.56	-0.86	
	DGT	-0.50		-0.63	n.s.	-	-	0.92	
Zn	CaCl ₂	-0.77		-0.87	0.39	0.91	0.92	n.s.	
	Eau interstitielle	-0.87		-0.92	0.23	-	0.56	-0.86	
	DGT	-0.88		-0.86	0.35	-	-	0.82	
Cd	DGT	-0.92		-0.93	n.s.	n.m.	-	0.84	
Cu	CaCl ₂	n.s.		n.s.	0.93	0.47	0.52	n.s.	
	Eau interstitielle	n.s.		n.s.	0.91	-	0.42	n.s.	
	DGT	n.s.		n.s.	-0.50	-	-	0.87	

Le Cu, les diverses concentrations mesurées dans l'eau interstitielle, les extraits CaCl₂ et par DGT sont en corrélation avec la teneur en carbone organique dissous : positive pour les extraits CaCl₂ et l'eau interstitielle, et négative pour les extraits DGT. La concentration de Cu dans la plante montre une corrélation positive avec les niveaux obtenus par les extraits DGT.

Les paramètres physico-chimiques du sol et de l'eau interstitielle sont les principaux facteurs qui influencent les flux de contaminants. Ainsi, le pH régule les flux de Zn et de Cd. Cette relation négative entre le pH et la disponibilité environnementale a également été observée dans le chapitre 3 et largement discutée dans la littérature (Houben et al., 2013; Bradl, 2004; Sauvé et al., 2000). En revanche, le flux de cuivre est régulé par le carbone organique dissous dans la solution du sol. Les vers de terre, grâce à leur activité de bioturbation, ainsi que la colonisation des turricules par les microorganismes qui dégradent cette matière organique, vont favoriser la libération de composés organiques solubles (Bailey et al., 2019; Cole et al., 2001; Standen, 1978). Ces composés dissous peuvent former des complexes organométalliques et faciliter le transfert du cuivre dans la solution (Brunetto et al., 2016; Sizmur & Hodson, 2009; McBride et al., 2005).

Cependant, les paramètres physico-chimiques du sol et de la solution du sol ne semblent pas être les principaux facteurs affectant les variations de disponibilité et de biodisponibilité de l'azote et du phosphore. Ils agiraient donc plutôt comme des facteurs secondaires. Les activités enzymatiques et microbiennes pourraient être les principaux facteurs déterminants. En effet, il est reconnu que les vers de terre augmentent l'accessibilité de la matière organique aux microorganismes, favorisant ainsi sa dégradation et le recyclage (Bailey et al., 2019; Blouin et al., 2013).

5.1 PERSISTANCE DE L'EFFET DES ANNELIDES SUR LA CROISSANCE DES PLANTES

5.1.1 Résultats : Poids des parties aériennes et souterraines des plantes

Que ce soit pour le poids total des plantes ou pour le poids de chaque partie, une augmentation est observée dans la condition Ea-L par rapport aux valeurs de la condition S-L (Wilcoxon : $p < 0.05$) (Figure 5.6). Ainsi, une augmentation du poids total de 24 % a été calculée, avec une hausse respective de 30 % pour la partie aérienne et de 22 % pour la partie souterraine.

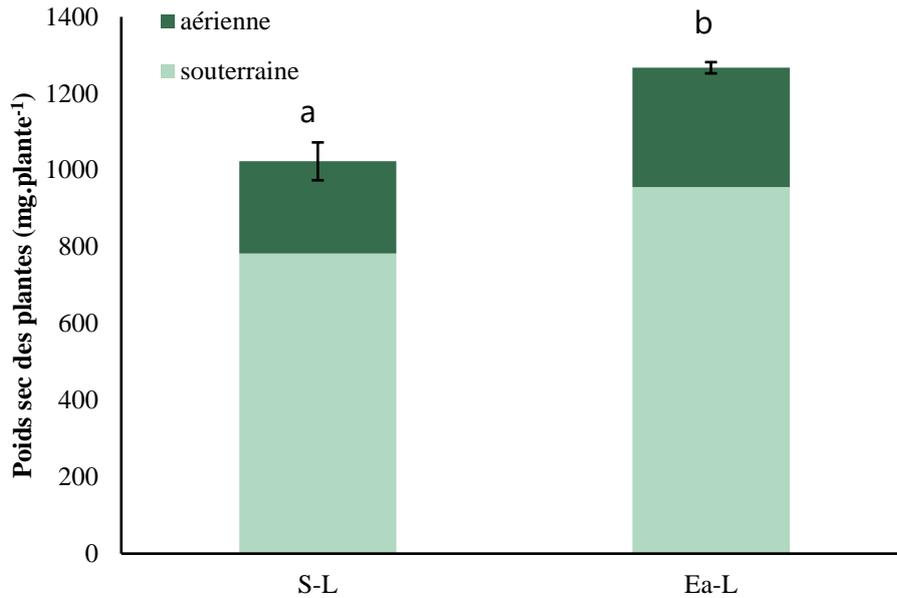


Figure 5.6 : Poids sec de la partie aérienne (vert foncé) et souterraine (vert clair) des plantes (mg.plante⁻¹) cultivées sur un sol travaillé par les vers de terre (Ea-L) ou en absence de vers de terre (S-L). Les différences significatives entre les poids sont représentées par différentes lettres (Wilcoxon : $p < 0.05$) ($n = 5$).

5.1.2 Relation entre la croissance des plantes et les flux d'éléments

Le poids de la partie aérienne des plantes est influencé par trois éléments : l'azote, le phosphore et le cadmium (Eq. 5.1). Une augmentation des teneurs extractibles de l'azote et du phosphore dans une solution de CaCl_2 explique une hausse de la biomasse aérienne des plantes avec un coefficient de 1.91 pour l'azote ($p < 0.01$) et de 16.59 pour le phosphore ($p < 0.01$). De plus, une augmentation de la teneur extractible en phosphore par extraction DGT est positivement corrélée à une augmentation de la masse aérienne des plantes avec un coefficient de 2.60 ($p < 0.001$). En revanche, une relation négative a été observée entre la masse aérienne des plantes et la teneur extractible en Cd par DGT, avec un coefficient de -294 ($p < 0.01$).

$$\text{Poids}_{\text{partie aérienne}} = 1.91 \times N_{\text{CaCl}_2} + 16.59 \times P_{\text{CaCl}_2} + 2.60 \times P_{\text{DGT}} - 294 \times \text{Cd}_{\text{DGT}} + 24.58$$

Eq 5.1 : Régression linéaire du poids de la partie aérienne des plantes en fonction des différents indicateurs de biodisponibilité des éléments, ainsi que de la biomasse totale en vers de terre dans les cosmes. Seules les valeurs significatives ($p < 0.05$) sont conservées dans l'équation. $R^2 = 0.89$

5.1.3 Discussion : Trois éléments affectent la croissance des plantes

L'augmentation de 30 % du poids de la partie aérienne est similaire à celle observée dans les chapitres 3 et 4 et concorde avec les résultats trouvés dans la littérature, tant pour les sols contaminés que non contaminés (van Groenigen et al., 2014 ; Dadan et al., 2007). Cependant, l'augmentation de la biomasse racinaire notée dans cette étude contraste avec les résultats des chapitres 3 et 4, où une réduction du poids de la partie racinaire a été constatée. Ces diminutions précédemment observées seraient donc attribuables à une interaction physique entre les racines et les vers de terre, entraînant leur abrasion (Brown et al., 2004).

Tout comme dans la section 3.2, les trois éléments N, P et Cd influencent le poids des plantes. L'azote est reconnu comme le principal facteur par lequel les vers de terre stimulent la croissance des plantes (van Groenigen et al., 2014 ; Brown et al., 2004), tandis que le rôle du phosphore est moins documenté. Quant au cadmium, bien que les concentrations restent inférieures aux seuils de phytotoxicité (Chaney, 1989), il serait responsable d'une réduction du poids des plantes (Li et al., 2019).

5.2 CONCLUSION PARTIELLE

Les modifications des caractéristiques physico-chimiques du sol et de la solution du sol induites par les vers de terre persistent après leur retrait et continuent de réguler la disponibilité et la biodisponibilité des ET. En effet, la persistance de l'acidification du sol et de la solution du sol entraîne une augmentation de la disponibilité environnementale du zinc et du cadmium. Par contre, c'est l'augmentation du carbone organique dissous, via la solubilisation des composés organiques dans la solution du sol, qui favorise la migration du cuivre de la phase solide à la phase liquide du sol.

Pour les nutriments, leur dynamique n'est pas principalement dictée par les changements des caractéristiques physico-chimiques du sol, suggérant ainsi que l'impact des vers de terre sur le sol est plus complexe. Ces altérations se manifestent par une disponibilité accrue du phosphore tandis que celle de l'azote diminue au fil de l'incubation.

Chapitre 5 : Héritage de l'activité des vers de terre sur le sol

Les plantes cultivées dans un sol préalablement travaillé par les vers de terre vont peu à peu occulter l'effet de ces derniers sur les caractéristiques physico-chimiques du sol pour y imprimer leur propre marque, se manifestant par une alcalinisation du sol, une baisse de la conductivité de l'eau interstitielle et des concentrations en carbone organique dissous. La présence des plantes réduit également les concentrations en ET et en nutriments dans la solution du sol, à la fois par absorption racinaire et par des mécanismes d'immobilisation dans le sol. Cependant, les plantes bénéficieront de l'augmentation de la biodisponibilité des nutriments, ce qui se traduira par une hausse de leur croissance et donc par une augmentation du poids des parties aériennes et racinaires. Néanmoins, la présence de cadmium tend à ralentir cette croissance.

Nous avons dans les chapitres précédents exploré l'interaction ver de terre – plante sur différents aspects. Nous avons notamment vu que grâce à son travail du sol, les vers de terre vont modifier les fonctions associées au sol et induire des flux à la fois d'éléments nutritifs et d'ET qui vont influencer la croissance des plantes. Dans le chapitre suivant, nous allons nous intéresser à un organisme fonctionnellement proche des vers de terre : les enchytréides. Nous verrons ainsi, si ce groupe d'organismes peut offrir une redondance écologique avec les vers de terre permettant ainsi de parler d'interactions annélides – plantes et non uniquement d'interaction ver de terre – plante.

6. CHAPITRE 6 : LES ENCHYTREIDES, UN NOUVEL ORGANISME POUR L'INTERACTION PLANTE - ANNELIDES

Dans ce chapitre, nous allons nous intéresser à la spécificité des enchytréides qui les distingue des vers de terre dans les fonctions du sol et dans l'interaction plantes-annélides. Pour ce faire, nous comparerons les effets des enchytréides seuls ou en interaction avec les vers de terre sur le sol et les plantes, en nous basant sur les expériences B et D (chapitre 2). Bien plus petits que les vers de terre, les enchytréides sont supposés être complémentaires et tout aussi importants dans le fonctionnement des sols. Ce chapitre vise à répondre aux questions suivantes (Fig. 6.0) : 1/ Un groupe proche des vers de terre, tant phylogénétiquement que fonctionnellement, comme les enchytréides, peut-il induire une augmentation de la croissance des plantes via les modifications des flux d'éléments dans le sol ? 2/ L'effet des enchytréides sur le sol et la croissance des plantes est-il comparable à celui des vers de terre ?

● : Quels sont les effets de l'exposition à un sol marginal contaminé sur court et long terme pour les vers de terre ?

Q2 : Quelles sont les fonctions du sol modifiées par les vers de terre ?

Q2a : Un groupe fonctionnellement proche des vers de terre peut-il avoir le même effet ?

Q3 : En quoi ces modifications influencent-elles les flux d'éléments dans le sol et quelles en sont les conséquences sur la croissance des plantes ?



Q5 : Existe une boucle de rétroaction par la plante sur cette interaction ?

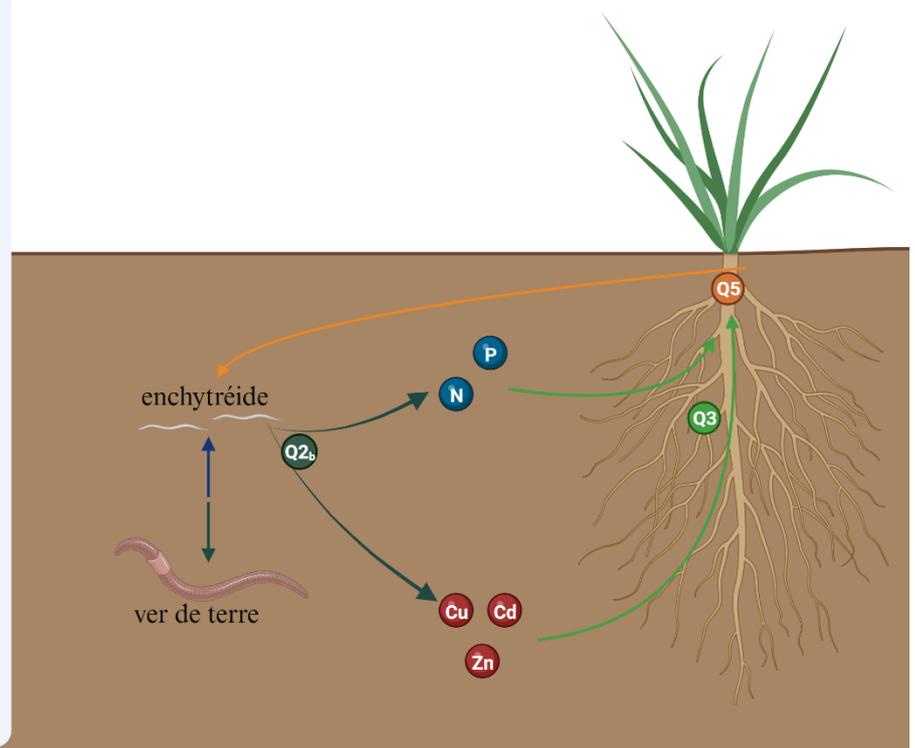


Figure 6.0 : Schéma conceptuel des questions du chapitre 6

Ce chapitre est divisé en deux parties, chacune visant à tester une hypothèse spécifique : i/ les enchytréides, à l'instar des vers de terre, peuvent accroître les flux d'éléments nutritifs et réduire les flux de contaminants vers les plantes, conduisant à une augmentation de la biomasse (partie 6.1) ; ii/ la présence simultanée d'enchytréides et de vers de terre dans le sol mène à une augmentation plus marquée de la biomasse des plantes, grâce à une complémentarité des effets de chaque groupe (partie 6.2) . À travers ces deux expériences (B et D), nous tenterons de valider ces hypothèses. Ainsi, nous examinerons les flux nutritifs et de contaminants vers la plante induits par les enchytréides, qu'ils soient seuls ou en interaction avec les vers de terre, mais également les flux dans des sols préalablement travaillés par des annélides, ainsi que l'impact de ces flux sur la croissance des plantes.

6.1 INTERACTION ENCHYTREIDES - PLANTES

6.1.1 Densité des enchytréides et bioaccumulation des éléments traces métalliques

i. Résultats : Dénombrement des enchytréides

Le tableau 6.1 présente les données de dénombrement des enchytréides au début et à la fin de l'expérimentation dans les cosmes. Initialement, une biomasse identique d'enchytréides a été introduite dans les deux conditions, En et EnL, sans différence significative (Wilcoxon : $p > 0.05$), ce qui correspond à une inoculation d'environ 600 enchytréides pour chacune des conditions (Wilcoxon : $p > 0.05$). En fin d'expérimentation, une augmentation significative du nombre d'enchytréides a été observée dans les cosmes avec plantes (EnL) comparativement à la condition sans plantes (En) (Wilcoxon : $p < 0.05$). Le nombre total d'enchytréides estimé est passé à 837 dans la condition En et à 1 013 dans la condition EnL, soit une augmentation respective de $38 \pm 14 \%$ et $66 \pm 10 \%$ entre le début et la fin de l'expérimentation (Wilcoxon : $p < 0.05$).

i. Résultats : Bioaccumulation des éléments traces métalliques dans les enchytréides

Les teneurs et facteurs de bioaccumulation en Zn, Cd et Cu chez les enchytréides sont rapportées dans le tableau 6.2 pour les conditions En et EnL. Des concentrations plus élevées de Zn et de Cd ont été mesurées chez les enchytréides de la condition En (Wilcoxon : $p < 0.05$), avec des valeurs internes de 164.5 mg.kg^{-1} pour le Zn et de 17.2 mg.kg^{-1} pour le Cd, soit une

Tableau 6.1 : Dénombrement du nombre initial et final d'enchytréides. Le nombre d'enchytréides inoculés dans les cosmes ($n = 5$) est estimé à partir de la biomasse totale introduite (exprimée en mg ; $n = 5$). Le nombre total d'enchytréides présents dans chaque cosme à la fin de l'expérimentation ($n = 5$) est déduit du nombre d'enchytréides comptabilisés dans un échantillon de sol de 25 g ($n = 5$). Les données sont présentées sous la forme de la valeur moyenne \pm l'écart-type ; les valeurs estimées sont indiquées par un astérisque (*). Chaque paramètre a été analysé séparément et les différences significatives entre les groupes sont signalées par des lettres distinctes (Wilcoxon : $p < 0.05$).

Condition	Biomasse inoculée (mg)	Nombre d'enchytréides inoculés (nombre d'individus)	Nombre d'enchytréides dans les échantillons (nombre d'individus)	Nombre d'enchytréides final dans les cosmes (nombre d'individus)
En	2 233.2 \pm 55.2 (a)	604 \pm 15 * (a)	104 \pm 16 (a)	837 \pm 136 * (a)
EnL	2 241.2 \pm 37.2 (a)	607 \pm 10 * (a)	127 \pm 12 (b)	1 013 \pm 96 * (b)

augmentation de 15 % pour le Zn et de 28 fois pour le Cd par rapport aux niveaux mesurés avant l'introduction des enchytréides dans le sol (Wilcoxon : $p < 0.05$). En présence de plantes, les teneurs en Zn et Cd étaient respectivement de 143.5 mg.kg⁻¹ et de 1.0 mg.kg⁻¹, indiquant que les niveaux de Zn n'étaient pas significativement différents de ceux trouvés chez les enchytréides non contaminés (NC) (Wilcoxon : $p > 0.05$), tandis qu'une augmentation de 67 % a été notée pour le Cd (Wilcoxon : $p < 0.05$). Pour le cuivre, une augmentation de 76 % a été constatée pour la condition En et de 31 % pour la condition EnL par rapport aux enchytréides NC (Wilcoxon : $p < 0.05$), cependant, il n'y avait pas de différence significative entre les conditions En et EnL pour cet élément (Wilcoxon : $p > 0.05$).

Tableau 6.2 : Concentration en ET (mg.kg⁻¹) et facteur de bioaccumulation (BAF) dans le corps des enchytréides des sols expérimentaux (En, EnL) et des spécimens issus des cultures commerciales (NC) ($n=5$). Les données sont exprimées en tant que valeurs moyennes \pm écart-type. Chaque élément a été évalué individuellement et les différences significatives sont signalées par des lettres différentes au sein de chaque groupe (test de Wilcoxon : $p < 0.05$).

Mesure	Elément	NC	En	EnL
Concentration interne (mg.kg ⁻¹)	Zn	142.7 \pm 4.8 (a)	164.5 \pm 10.6 (b)	143.5 \pm 3.2 (a)
	Cd	0.6 \pm 0.1 (a)	17.2 \pm 0.2 (b)	1.0 \pm 0.2 (c)
	Cu	14.4 \pm 1.5 (a)	25.3 \pm 2.7 (b)	19.0 \pm 2.9 (b)
BAF	Zn	-	0.28 \pm 0.01 (a)	0.24 \pm 0.02 (b)
	Cd	-	2.52 \pm 0.04 (a)	0.15 \pm 0.03 (b)
	Cu	-	0.17 \pm 0.02 (a)	0.15 \pm 0.02 (a)

Le facteur de bioaccumulation (BAF) qui correspond au rapport entre la teneur interne dans l'organisme et la teneur totale dans le sol a été déterminé pour le Cu, le Zn et le Cd. En général, le BAF pour le Zn et le Cu était inférieur à 1. Pour le Cd, le BAF dépassait 2 dans la condition En et était inférieur à 1 pour la condition EnL. La présence de plantes a entraîné une réduction significative du BAF pour le Zn et le Cd (Wilcoxon : $p < 0.05$). En revanche, pour le Cu, aucune différence significative n'a été détectée pour le BAF entre les conditions En et EnL (Wilcoxon : $p > 0.05$).

ii. Discussion : Tolérance des enchytréides à la contamination

Lorsque les enchytréides sont incubés pendant deux mois dans le cosme, c'est au moins deux générations qui se superposent dans le cosme, la longévité d'un individu étant d'environ 40 jours (Reynoldson, 1943). Cette hypothèse est également soutenue par l'observation de cocons éclos lors du comptage des enchytréides dans les échantillons. Ainsi, nous observons que les enchytréides inoculés ont pu se reproduire et les juvéniles se développer suffisamment pour maintenir une population égale, voire supérieure, dans les cosmes, malgré une augmentation des teneurs internes en trois ET (Cu, Zn et Cd). Toutefois, nous avons observé des facteurs d'accumulation différents pour chaque ET, avec une augmentation très forte de la teneur en Cd contrairement aux teneurs en Zn et Cu. Des teneurs internes similaires ont également été observées dans d'autres expérimentations sans toxicité aiguë supérieure à ces valeurs (Lock & Janssen, 2001 ; Lock et al., 2000), validant notre hypothèse de conditions sublétales. Ces différences pourraient être expliquées par la distinction entre le Cd, qui est un ET non essentiel, et le Cu et le Zn qui sont, quant à eux, des ET dits essentiels. En effet, il a été suggéré une meilleure régulation des ET essentiels tels que le Cu et le Zn avec des processus d'élimination spécifiques, tandis que les ET non essentiels sont moins bien excrétés (Zhang et al., 2022 ; Santos et al., 2021 ; Simkiss & Biol, 1979). La détoxification des ET non essentiels se ferait alors par stockage dans des organes réservoirs ou par chélation (métalloprotéines) (Cedergreen et al., 2013). Cette différence dans les cinétiques d'absorption entre les ET essentiels et non essentiels a notamment été observée chez une espèce proche, *Enchytraeus crypticus* (Zhang et al., 2022). Il a notamment été montré une différence dans l'absorption des ET essentiels (Cu et Zn) et non essentiels (Cd). Alors que les ET essentiels sont rapidement absorbés avec un équilibre d'accumulation rapide, les

teneurs en cadmium ont augmenté plus lentement sans atteindre un équilibre, avec une BAF importante.

La présence de plantes favorise grandement le développement des populations d'enchytréides dans les cosmes avec une augmentation du nombre d'individus retrouvés. Ces résultats pourraient être liés à un apport de nourriture par les plantes. En effet, les enchytréides sont principalement microbivores et se nourrissent principalement des microorganismes qui colonisent les tissus végétaux, morts ou vivants (Didden, 1990 ; Standen, 1984). Toutefois, la présence de plantes induit également une diminution des teneurs en ET accumulés, avec des valeurs en Zn proches de celles des enchytréides non contaminés et une forte réduction des teneurs en Cd notamment. Cet effet pourrait être indirect, via une diminution de la biodisponibilité des ET due à une modification du pH du sol par la rhizosphère. Cette hypothèse sera développée dans les parties suivantes.

6.1.2 Évolution des caractéristiques physico-chimiques du sol et de l'eau interstitielle en présence d'enchytréides

L'évolution des paramètres physico-chimiques du sol et de la solution du sol entre le début et la fin de l'incubation est présentée dans le tableau 6.3.

Pour les cinq paramètres (pH, conductivité, azote, phosphore et carbone organique dissous), les valeurs initiales sont identiques entre les deux conditions, avec pour le sol un pH moyen de 7.80 (Tukey-HSD : $p > 0.05$) et une conductivité moyenne de 95.55 μS (Tukey-HSD : $p > 0.05$), et pour la solution du sol un pH moyen de 7.53 (Tukey-HSD : $p > 0.05$), une conductivité moyenne de 344.89 μS (Wilcoxon : $p < 0.05$) et une teneur en carbone organique dissous de 94.55 mg.L^{-1} (Wilcoxon : $p < 0,05$).

Box 6.1 : Rappel des paramètres physicochimiques du sol et de la solution du sol des conditions S et L.

Condition S	pH sol : 7.66 ; conductivité sol : 126.47 μS ; pH eau interstitielle : 7.69 ; conductivité eau interstitielle : 452.58 μS ; COD eau interstitielle : 46.47 mg.L^{-1} .
Condition L	pH sol : 8.51 ; conductivité sol : 97.91 μS ; pH eau interstitielle : 8.35 ; conductivité eau interstitielle : 70.80 μS ; COD eau interstitielle : 17.91 mg.L^{-1} .

La présence d'enchytréides seuls (En) n'influence ni le pH du sol global (Tukey-HSD : $p > 0.05$) ni celui de l'eau interstitielle (Tukey-HSD : $p > 0.05$), qui sont restés constants au cours de l'expérimentation, tout comme pour les valeurs de la condition de contrôle S (Box 6.1) (Wilcoxon : $p > 0.05$). En revanche, on observe une augmentation de 60 % pour la conductivité du sol (Tukey-HSD : $p < 0.05$) et de 44 % pour la conductivité de la solution du sol (Wilcoxon : $p < 0.05$). Ces deux augmentations sont supérieures à celles observées dans la condition contrôle (S ; Box 6.1) (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Enfin, la teneur en carbone organique dissous dans l'eau interstitielle est restée stable au cours de l'incubation pour la condition En (Wilcoxon : $p > 0.05$), contrairement à la diminution de 50 % observée dans la condition S (Box 6.1) (Wilcoxon : $p < 0.01$).

En présence de plantes (EnL), une alcalinisation du sol et de la solution du sol est observée (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Toutefois, cette alcalinisation est similaire à celle observée dans la condition contrôle L (Wilcoxon : $p > 0.05$) (Box 6.1). Pour la conductivité du sol, aucune différence n'a été observée entre la condition EnL et la condition L (Tukey-HSD : $p > 0.05$), avec des valeurs restant stables entre le début et la fin de l'expérimentation (Tukey-HSD : $p > 0.05$). En revanche, malgré des diminutions importantes de 75 % de la conductivité de l'eau interstitielle et des teneurs en carbone organique dissous (Wilcoxon : $p < 0.05$), ces diminutions sont moins importantes que celles observées dans la condition contrôle L (conductivité : 79 %, COD : 82 %) (Box 6.1) (Wilcoxon : $p < 0.05$).

La présence de plantes induit une alcalinisation du sol et de l'eau interstitielle. Ce résultat vient renforcer l'idée que le pH du sol est un facteur important dans la régulation de l'exposition des enchytréides aux ET (Kapusta & Sobczyk, 2015). En effet, le pH est connu pour être un facteur de régulation de la biodisponibilité des ET (Sauvé et al., 2000). Ce lien sera développé dans la partie 6.1.5.

Tableau 6.3 : Paramètres physico-chimiques du sol et de l'eau interstitielle du sol. Les différences significatives (Wilcoxon : $p < 0.05$ pour le pH du sol, le pH de l'eau interstitielle et le carbone organique dissous ; Tukey-HSD : $p < 0.05$ pour la conductivité du sol et la conductivité de l'eau interstitielle) entre les valeurs sont indiquées par des lettres différentes pour chaque paramètre. La couleur verte indique une augmentation significative entre T_0 et T_f , à l'inverse la couleur rouge indique une diminution. Les données sont présentées sous la forme valeur moyenne \pm écart-type, $n = 5$.

	Sol				eau interstitielle du sol					
	pH	Conductivité (μS)	pH	Conductivité (μS)	Conductivité (μS)	Carbone organique dissous (mg.L ⁻¹)				
	T_0	T_f	T_0	T_f	T_0	T_f				
En	7.83 ± 0.09 (a)	7.56 \pm 0.14 (a)	89.28 \pm 6.57 (a)	143.18 \pm 4.57 (b)	7.46 \pm 0.10 (a)	7.66 \pm 0.12 (a)	354.37 \pm 17.96 (a)	509.87 \pm 22.50 (b)	89.28 \pm 6.57 (a)	73.18 \pm 4.57 (a)
EnL	7.77 \pm 0.05 (a)	8.63 \pm 0.12 (b)	99.81 \pm 7.44 (a)	84.96 \pm 2.53 (a)	7.59 \pm 0.16 (a)	8.36 \pm 0.10 (b)	335.40 \pm 18.81 (a)	82.69 \pm 5.30 (c)	99.81 \pm 7.44 (a)	24.96 \pm 2.53 (b)

6.1.3 Effet des enchytréides sur les flux nutritifs

i. Disponibilité environnementale des nutriments

La disponibilité environnementale des nutriments est estimée à travers deux indicateurs : les teneurs dans les extraits CaCl_2 et dans l'eau interstitielle du sol, dont les résultats sont présentés sur la Figure 6.1. Les valeurs des conditions contrôle S et L présentées dans le chapitre 3 sont rappelées dans la box 6.2

Box 6.2 : Rappel des teneurs finales en nutriments dans les extraits CaCl_2 et de l'eau interstitielle des conditions S et L.

Condition S	N - CaCl_2 : 5.85 mg.g^{-1} ; N - SPW : 464.91 mg.L^{-1} ; P - CaCl_2 : 0.50 mg.g^{-1} ; P - SPW : 4.98 mg.L^{-1} .
Condition L	N - CaCl_2 : 5.46 mg.g^{-1} ; N - SPW : 0.05 mg.L^{-1} ; P - CaCl_2 : 0.50 mg.g^{-1} ; P - SPW : 3.67 mg.L^{-1} .

Initialement, aucune différence significative n'a été détectée dans les concentrations d'azote et de phosphore entre les conditions expérimentales (En, EnL, S, L) pour les extraits de CaCl_2 et d'eau interstitielle ($p > 0.05$). Une hausse des teneurs en azote de 62 % pour la condition En et de 73 % pour la condition EnL a été constatée pendant l'incubation (Tukey-HSD : $p < 0.05$), contrairement aux conditions contrôles S et L où aucune augmentation n'a été notée. Les concentrations de phosphore sont restées inchangées dans toutes les conditions au cours de l'incubation (Wilcoxon : $p > 0.05$).

Dans la condition En, la concentration en azote dans l'eau interstitielle a augmenté de 49 % entre le début et la fin de l'incubation, en contraste avec la condition S où elle est restée stable (Wilcoxon : $p < 0.05$). Les teneurs en phosphore sont restées stables dans l'eau interstitielle pour les conditions En et S (Tukey-HSD : $p > 0.05$). En présence de plantes (EnL), une réduction significative des niveaux d'azote (inférieurs à 1 mg.L^{-1}) et une baisse de 25 % des teneurs en phosphore ont été observées dans l'eau interstitielle (Tukey-HSD : $p < 0.05$), avec des résultats similaires à ceux de la condition contrôle L (Tukey-HSD : $p > 0.05$).

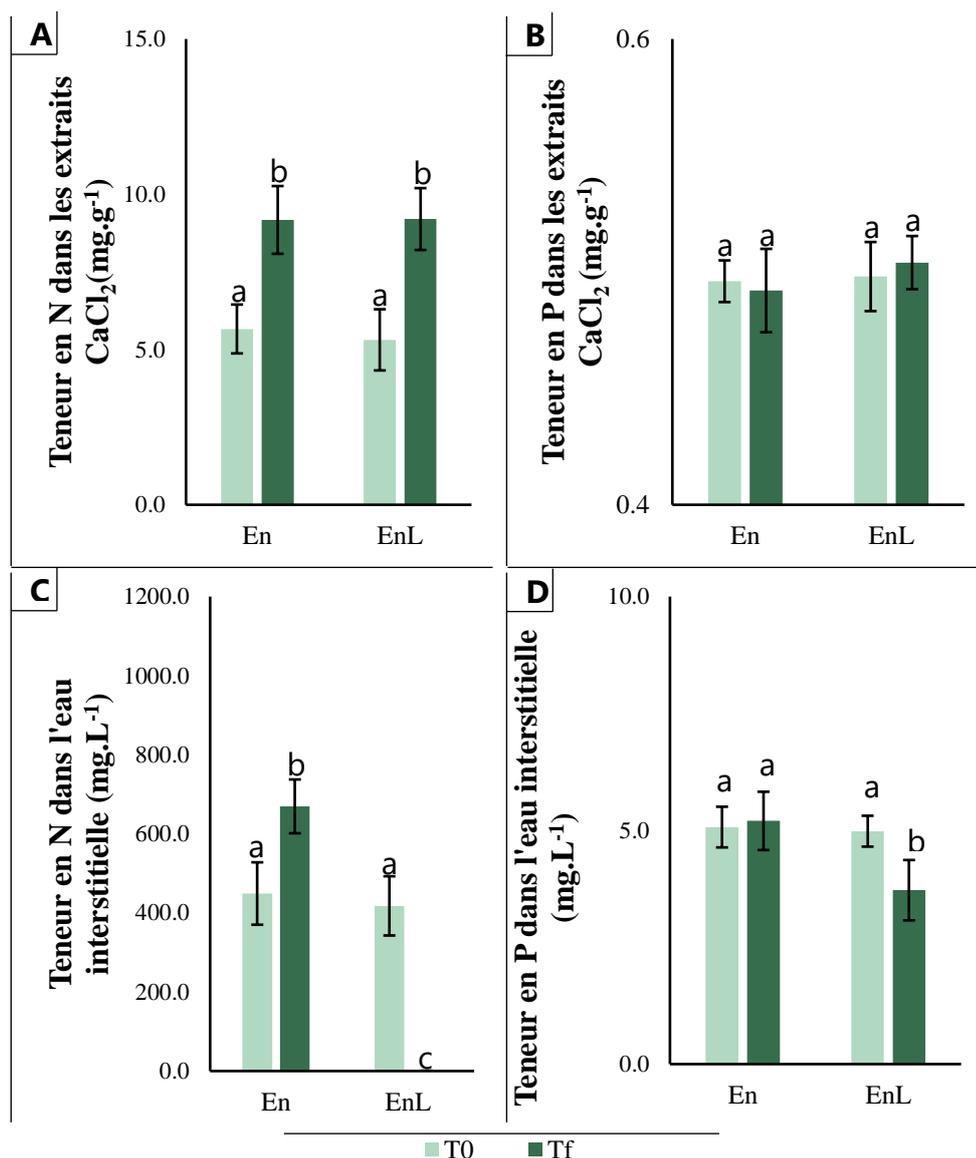


Figure 6.1 : L'estimation de la disponibilité environnementale de l'azote et du phosphore s'est effectuée en mesurant la fraction extractible par une solution de CaCl₂ dans des échantillons de sols secs. Pour l'azote (A) et le phosphore (B), les échantillons ont été collectés au début (T₀) et à la fin de l'expérimentation (T_f). De plus, l'azote (C) et le phosphore (D) ont été dosés dans l'eau interstitielle du sol. Cette eau a été récoltée par les rhizon samplers aux mêmes points temporels, T₀ et T_f. Les différences statistiquement significatives entre les groupes sont indiquées par des lettres différentes ($p < 0.05$; N-CaCl₂ et P-SPW : Tukey-HSD ; N-SPW et P-CaCl₂ : Wilcoxon).

Alors que les extractions au CaCl₂ permettent de déterminer la disponibilité en nutriments du sol (Regeling & Koopmans, 2020), l'eau interstitielle reflète un équilibre entre les processus de recharge et d'élimination dans ce compartiment (Di Bonito et al., 2018). Effectivement, elle est constamment rechargée par les phases solides et gazeuses du sol, ainsi que par l'activité des organismes du sol et les exsudats des racines (Lindsay, 1979 ; Mattigod et al., 1981). En parallèle, les éléments dissous peuvent être extraits de la solution par les racines des plantes et les

Chapitre 6 : Les enchytréides, un nouvel organisme pour l'interaction plante - annélides

organismes en contact avec celle-ci (Wan et al., 2018). Ainsi, nos résultats indiquent une augmentation de la disponibilité en phosphore due aux enchytréides, que des plantes soient présentes ou non, sans modification significative pour l'azote. La plante, quant à elle, n'influence pas directement la disponibilité des éléments dans le sol mais prélève les éléments disponibles dans l'eau interstitielle par absorption racinaire (Wan et al., 2018).

ii. Biodisponibilité environnementale des nutriments

La biodisponibilité du phosphore dans l'environnement est évaluée au moyen de trois méthodes : l'extraction par la technique DGT sur des échantillons de sols frais, la détermination de la concentration de phosphore dans les parties aériennes des plantes et la mesure de la biomasse minérale en phosphore des parties aériennes. Pour l'azote, la biodisponibilité est estimée par la concentration dans les parties aériennes des plantes et par leur biomasse minérale en azote. Ces résultats sont reportés dans le tableau 6.4. Les valeurs pour les conditions de contrôle S et L, introduites dans le chapitre 3, sont récapitulées dans l'encadré 6.3.

Box 6.3 : Rappel des teneurs finales en nutriments dans les extraits DGT des conditions S et L ainsi que les teneurs dans les feuilles et la minéralomasse de la condition L.

Condition S P-DGT : 1.31 $\mu\text{g.sampler}^{-1}$.
 Condition L P-DGT : 1.31 $\mu\text{g.sampler}^{-1}$; P-feuille : 3.70 mg.g^{-1} ; P-minéralomasse : 0.96 mg.plante^{-1} ; N-feuille : 51.20 mg.g^{-1} ; N-minéralomasse : 13.20 mg.plante^{-1} .

Tableau 6.4 : L'estimation de la biodisponibilité de l'azote et du phosphore a été réalisée en mesurant les teneurs en phosphore extraites par la technique DGT (Diffusive Gradients in Thin-films) dans des échantillons de sol frais, prélevés au début (T_0) et à la fin de l'expérience (T_f). Les concentrations en azote et en phosphore accumulées dans les feuilles des plantes ainsi que leur biomasse minérale ont également été analysées. Les valeurs obtenues sont présentées sous la forme de la moyenne \pm l'écart-type. Les différences significatives entre les groupes sont indiquées par des lettres différentes pour les teneurs en phosphore extraites par DGT (Tukey-HSD : $p < 0.05$).

Nutriment	Condition	Teneur dans les extraits DGT ($\mu\text{g.sampler}^{-1}$)		Teneur dans les parties aériennes	
		T_0	T_f	Concentration (mg.g^{-1})	Minéralomasse (mg.plante^{-1})
N	EnL			52.36 \pm 0.97	18.27 \pm 2.48
P	En	1.13 \pm 0.04 (a)	1.56 \pm 0.04 (d)		
	EnL	1.20 \pm 0.05 (a)	1.49 \pm 0.06 (f)	4.63 \pm 0.52	1.62 \pm 0.28

Sous les deux conditions expérimentales, En et EnL, nous observons une hausse significative de la teneur en phosphore extractible à la fin de l'expérimentation : 19 % pour En et 14 % pour EnL, par rapport aux conditions de contrôle S et L respectivement.

Concernant les plantes, la concentration en phosphore (test t : $p < 0.05$) ainsi que la biomasse minérale en phosphore (Wilcoxon : $p < 0.05$) sont augmentées dans la condition EnL comparativement à la condition L, avec une hausse de 25 % pour la concentration en phosphore et de 69 % pour la biomasse minérale en phosphore. La concentration en azote dans les parties aériennes (test t : $p > 0.05$) ne diffère pas significativement de celle observée dans la condition contrôle L. Cependant, la biomasse minérale en azote est supérieure (Wilcoxon : $p < 0.05$), présentant une augmentation de 38 %.

Les enchytréides contribuent à une augmentation des niveaux d'azote et de phosphore dans la partie aérienne des plantes. Cependant, cet accroissement est partiellement occulté par les variations de poids de la partie aérienne des plantes, comme illustré dans la section 6.1.6. Alors que l'élévation de l'azote est associée à une plus grande disponibilité environnementale de celui-ci, l'accroissement de phosphore ne semble pas correspondre à la mobilité de cet élément.

Comparativement aux vers de terre, la compréhension du rôle des enchytréides dans le recyclage des nutriments reste limitée. Ils sont néanmoins reconnus pour leur contribution au cycle de l'azote. van Vliet et al. (2004) ont notamment observé une hausse de 60 % du nitrate dans l'eau interstitielle du sol après 56 jours de travail du sol par les enchytréides en présence de litière végétale. Cependant, Plum & Filser (2008) n'ont détecté aucun impact significatif des enchytréides sur le recyclage du phosphore dans le sol.

Il est important de noter que, dans le sol, le phosphore est principalement présent sous forme organique (Schlesinger & Bernhardt, 2020; Richardson & Simpson, 2011). Les enchytréides pourraient influencer indirectement la mobilité du phosphore par leur action sur la matière organique. En effet, ils décomposent à la fois les résidus végétaux frais et les fractions organiques les plus résistantes, facilitant ainsi leur minéralisation (Pelosi & Römbke, 2016; Hendrix et al., 1986). Cette décomposition rend la matière organique plus accessible aux enzymes telles que les

phytases et les phosphatases rhizosphériques, d'origine végétale ou microbienne, pouvant ainsi accroître la disponibilité du phosphore pour les plantes (Pelosi & Römbke, 2016; Plante, 2007).

6.1.4 Effet des enchytréides sur les flux d'ET

i. Disponibilité environnementale des ET

Box 6.4 : Rappel des teneurs finales en Cu et Zn dans les extraits CaCl_2 et d'eau interstitielle des conditions S et L.

Condition S Cu CaCl_2 : 0.24 mg.kg^{-1} ; Zn CaCl_2 : 0.58 mg.kg^{-1} ; Cu SPW : 0.10 mg.L^{-1} ; Zn SPW : 0.13 mg.L^{-1} .

Condition L Cu CaCl_2 : 0.10 mg.kg^{-1} ; Zn CaCl_2 : 0.38 mg.kg^{-1} ; Cu SPW : 0.07 mg.L^{-1} ; Zn SPW : 0.07 mg.L^{-1} .

Les concentrations Cu, Zn et Cd ont été mesurées dans des échantillons de sol sec et dans l'eau interstitielle, prélevés au début et à la fin de l'expérimentation. Les niveaux de Cd étaient inférieurs à la limite de quantification ($4.7 \mu\text{g.L}^{-1}$) pour un nombre significatif d'échantillons, ce qui ne permettait pas leur exploitation statistique. Les concentrations en Cu et Zn sont reportées sur la Figure 6.2.

Dans les extraits de CaCl_2 , aucune différence significative n'a été constatée dans les concentrations initiales de Cu et de Zn entre les conditions En et EnL, et celles des conditions contrôles S et L (encadré 6.4) (Tukey-HSD : $p > 0.05$), avec des concentrations d'environ 0.24 mg.kg^{-1} pour le Cu et de 0.80 mg.kg^{-1} pour le Zn. Une légère augmentation non significative des teneurs a été observée en présence d'enchytréides sans plantes (Tukey-HSD : $p > 0.05$), les valeurs atteignant 0.28 mg.kg^{-1} pour le Cu et 0.98 mg.kg^{-1} pour le Zn. Toutefois, une diminution significative des concentrations a été enregistrée en présence de plantes (Tukey-HSD : $p < 0.05$), avec une réduction de 58 % pour le Cu et de 41 % pour le Zn, une tendance comparable à celle de la condition L (Tukey-HSD : $p > 0.05$).

Les concentrations initiales en Cu et Zn dans l'eau interstitielle n'étaient pas significativement différentes entre les conditions En et EnL, et celles des conditions S et L (encadré 6.4), avec des valeurs avoisinant 0.11 mg.L^{-1} pour le Cu et 0.12 mg.L^{-1} pour le Zn (Tukey-HSD pour le Cu : $p < 0.05$; Wilcoxon pour le Zn : $p < 0.05$). En l'absence de plantes (En), la concentration en Cu est restée stable tout au long de l'expérimentation (Tukey-HSD : $p > 0.05$), comme dans la condition S, tandis qu'une hausse de 50 % a été notée pour la concentration en Zn (Wilcoxon : $p < 0.05$). En

présence de plantes, une baisse de 36 % a été observée pour les concentrations en Cu et Zn (Tukey-HSD pour le Cu : $p < 0.05$; Wilcoxon pour le Zn : $p < 0.05$), une diminution similaire à celle de la condition L.

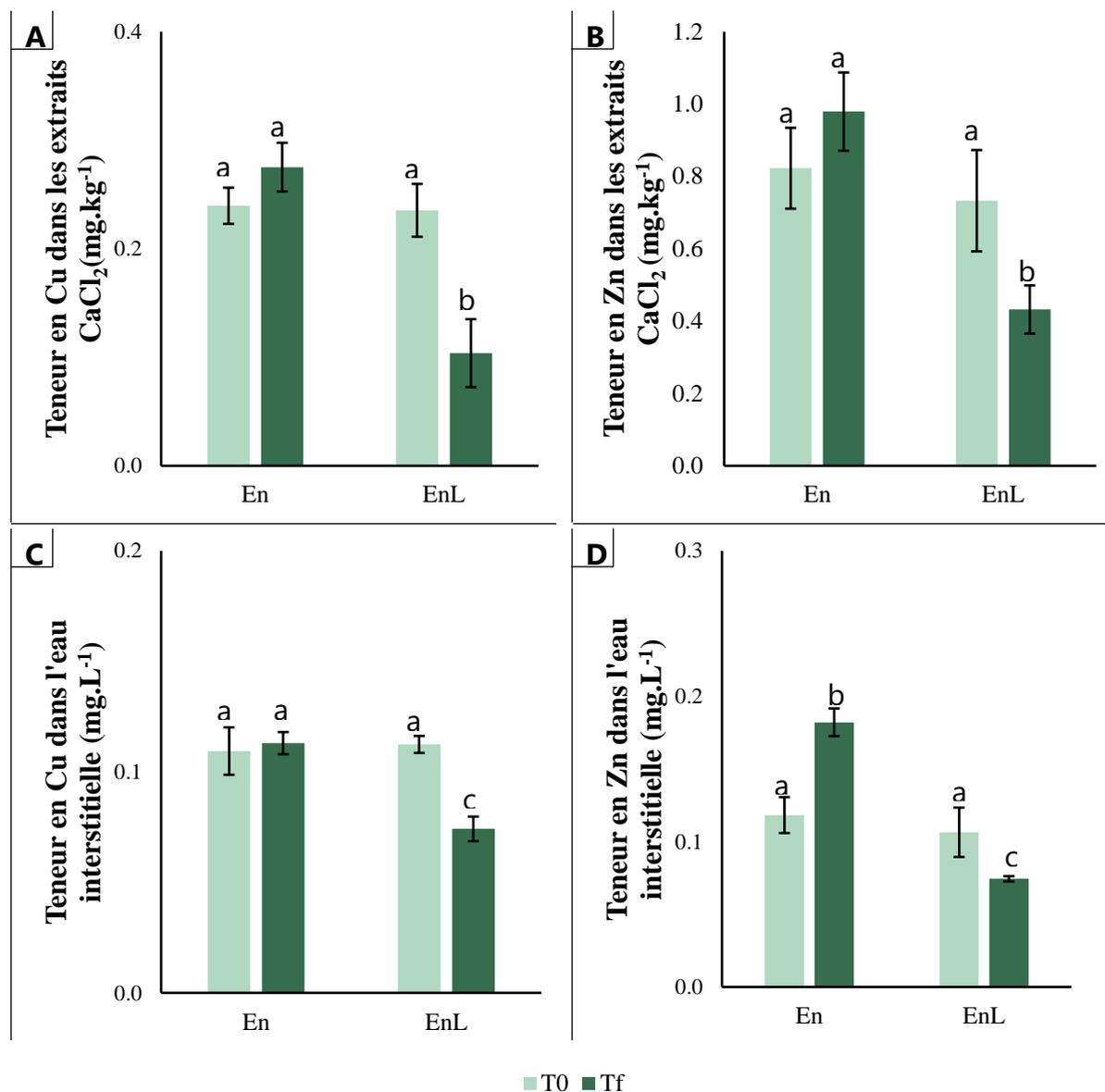


Figure 6.2 : L'estimation de la disponibilité environnementale du cuivre (Cu) et du zinc (Zn) a été réalisée en mesurant la fraction extractible par une solution de CaCl₂ dans des échantillons de sols secs. Ces mesures ont été effectuées pour le Cu (A) et le Zn (B) collectés au début (T₀) et à la fin de l'expérimentation (T_f). De plus, le dosage du Cu (C) et du Zn (D) a été effectué dans l'eau interstitielle du sol, échantillonnée par rhizon sampler, également au début (T₀) et à la fin de l'expérimentation (T_f). Les teneurs en cadmium (Cd) étaient en dessous de la limite de quantification pour un nombre conséquent d'échantillons, rendant leur analyse non exploitable. Les différences significatives entre les traitements sont indiquées par des lettres distinctes pour chaque élément ($p < 0,05$; Cu-CaCl₂ et Zn-CaCl₂ : Tukey-HSD ; Cu-SPW : Tukey-HSD ; Zn-SPW : Wilcoxon).

Alors que les variations de la disponibilité en Cu et en Zn en présence de plantes correspondent aux changements observés pour le carbone organique dissous et le pH, tels que discutés dans le chapitre 3, l'augmentation des concentrations en Zn dans l'eau interstitielle se produit sans diminution concomitante du pH. Il a été observé précédemment que l'augmentation de la mobilité des ET pouvait survenir malgré une alcalinisation du sol, comme cela a été rapporté chez les vers de terre (Udovic & Lestan, 2007 ; Ma et al., 2002). La sécrétion de mucus par ces organismes pourrait favoriser la formation de complexes organométalliques et leur transition dans la solution du sol. Un processus similaire pourrait être invoqué pour expliquer les résultats présents.

ii. Biodisponibilité environnementale des éléments traces métalliques

Box 6.5 : Rappel des teneurs finales en ET dans les extraits DGT de la condition S et L, ainsi que les teneurs et minéralomasse dans les feuilles de la condition L.

Condition S	Cu DGT : 0.31 $\mu\text{g.sampler}^{-1}$; Zn DGT : 1.92 $\mu\text{g.sampler}^{-1}$; Cd DGT : 0.12 $\mu\text{g.sampler}^{-1}$.
Condition L	Cu DGT : 0.32 $\mu\text{g.sampler}^{-1}$; Zn DGT : 1.07 $\mu\text{g.sampler}^{-1}$; Cd DGT : 0.07 $\mu\text{g.sampler}^{-1}$; Cu feuille : 15.32 $\mu\text{g.g}^{-1}$; Zn feuille : 164.53 $\mu\text{g.g}^{-1}$; Cd feuille : 0.95 $\mu\text{g.g}^{-1}$; Cu minéralomasse : 3.96 $\mu\text{g.plante}^{-1}$; Zn minéralomasse : 42.38 $\mu\text{g.plante}^{-1}$; Cd minéralomasse : 0.24 $\mu\text{g.plante}^{-1}$.

La biodisponibilité des ET a été estimée à l'aide de trois mesures : l'extraction par la technique DGT sur des échantillons de sols frais, la concentration en ET dans les parties aériennes des plantes, et enfin, la minéralomasse en ET dans ces mêmes parties. Les résultats de ces mesures sont présentés dans le tableau 6.5.

Les concentrations initiales en ET dans les extraits DGT étaient similaires pour les conditions En et EnL, ainsi que pour les conditions S et L ($p > 0.05$; Tukey-HSD pour le Cu ; Wilcoxon pour le Zn et le Cd).

En l'absence de plantes (condition En), une augmentation significative des concentrations extractibles par DGT a été observée : +61 % pour le Cu, +55 % pour le Zn et +37 % pour le Cd par rapport aux valeurs extractibles de Cu de la condition S et aux valeurs initiales de la condition En ($p < 0.05$; Tukey-HSD pour le Cu ; Wilcoxon pour le Zn et le Cd).

En présence de plantes (condition EnL), la concentration de Cu dans les extraits DGT est restée stable, tout comme dans la condition L (Tukey-HSD : $p > 0.05$), du début à la fin de l'incubation. Cependant, une baisse des concentrations de Zn et Cd extraites par DGT a été mesurée au cours de l'expérimentation dans la condition EnL (Wilcoxon : $p < 0.05$), avec une diminution de 36 % pour le Zn et de 60 % pour le Cd, une tendance similaire à celle observée dans la condition L (Wilcoxon : $p > 0.05$).

Une augmentation de 52 % de la concentration en Cu dans les feuilles a été constatée dans la condition EnL par rapport à la condition L (t-test : $p < 0.05$). Cependant, aucune différence significative pour les concentrations en Zn et Cd dans les feuilles n'a été notée entre ces deux conditions ($p > 0.05$; t-test pour le Cd ; Wilcoxon pour le Zn). Pour les trois ET, une augmentation significative de la minéralomasse a été enregistrée en présence d'enchytréides (condition EnL) : 104 % pour le Cu, 39 % pour le Zn, et 58 % pour le Cd, comparativement à la condition L (t-test : $p < 0.05$).

Tableau 6.5 : Teneurs en Cu, Zn et Cd dans les extraits DGT ($\mu\text{g}\cdot\text{échantillonneur}^{-1}$), ainsi que les teneurs et les minéralomasses en Cu, Zn et Cd dans les parties aériennes des plantes. Les différences significatives ($p < 0.05$; DGT-Cu : Tukey-HSD; DGT-Zn : Wilcoxon ; DGT-Cd : Wilcoxon) entre les valeurs sont représentées par différentes lettres pour chaque espèce chimique et chaque mesure. Les données sont présentées sous la forme valeur moyenne \pm écart-type, $n = 5$.

Élément	Condition	Teneur dans les extraits DGT ($\mu\text{g}\cdot\text{sampler}^{-1}$)		Teneur dans les parties aériennes	
		T ₀	T _f	Concentration ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Minéralomasse ($\mu\text{g}\cdot\text{plante}^{-1}$)
Cu	En	0.29 \pm 0.05 (a)	0.47 \pm 0.05 (b)		
	En-L	0.29 \pm 0.04 (a)	0.31 \pm 0.05 (a)	23.22 \pm 1.39	8.06 \pm 0.74
Zn	En	1.63 \pm 0.11 (a)	2.52 \pm 0.23 (b)		
	EnL	1.56 \pm 0.18 (a)	1.00 \pm 0.17 (c)	169.11 \pm 22.24	59.03 \pm 10.87
Cd	En	0.13 \pm 0.01 (a)	0.18 \pm 0.01 (b)		
	EnL	0.12 \pm 0.01 (a)	0.05 \pm 0.01 (c)	1.10 \pm 0.24	0.38 \pm 0.09

Les flux de contaminants vers les plantes ont augmenté pour les trois ET étudiés. Pour le Zn et le Cd, cette augmentation est marquée à la fois par une hausse des teneurs et de la

minéralomasse. En revanche, concernant le Cu, seule une augmentation de la minéralomasse est observée.

Comme pour les nutriments, les teneurs biodisponibles (mesurées par DGT) ou accumulées dans les plantes ne reflètent pas les concentrations disponibles (extraites par CaCl_2 et présentes dans l'eau interstitielle). Cela suggère l'existence de mécanismes de mobilisation des ET qui ne dépendent pas uniquement des modifications des caractéristiques physico-chimiques du sol, telles que le pH et le COD, phénomènes traditionnellement observés (Sizmur & Hodson, 2009). Cette augmentation pourrait néanmoins résulter d'un effet indirect lié à l'interaction des enchytréides avec les communautés microbiennes. Il a été démontré que les microorganismes, et notamment les champignons, peuvent accroître la biodisponibilité des ET pour les plantes (Wen et al., 2004). En stimulant la minéralisation de la matière organique, les enchytréides pourraient ainsi favoriser la libération des ET associés à cette fraction organique (Sizmur & Hodson, 2009). De surcroît, les communautés microbiennes sont capables de séquestrer des quantités significatives ET dans les tissus d'organismes morts et vivants (Adriano et al., 2004 ; Ahalya et al., 2003). Cependant, la prédation de ces organismes par les enchytréides, qui sont principalement microbivores (Pelosi & Römbke, 2016), pourrait aussi mobiliser les ET accumulés par ces communautés (Bolan et al., 2013).

6.1.5 Relation entre les paramètres physico-chimiques du sol, la disponibilité environnementale et la biodisponibilité des éléments

Les corrélations entre les paramètres physico-chimiques du sol, la disponibilité environnementale et la biodisponibilité des éléments ont été calculées et sont présentées dans le tableau 6.6.

Pour ce qui est des nutriments, il n'a été observé aucune corrélation entre les différents indicateurs de l'azote. Une faible corrélation a été trouvée entre le pH du sol ou de l'eau interstitielle et la teneur en phosphore dans l'eau interstitielle (pH sol : $r = -0.39$; pH eau : $r = -0.24$; $p < 0.05$). La teneur en phosphore extraite par DGT est aussi corrélée au pH de l'eau interstitielle ($r = -0.53$, $p < 0.05$). Les teneurs en phosphore dans les extraits DGT sont positivement

corrélées à la teneur en carbone organique dissous ($r = 0.35, p < 0.05$). Ces teneurs sont fortement corrélées aux concentrations observées dans les extraits de CaCl_2 ($r = 0.89, p < 0.05$) ainsi qu'aux

Tableau 3.12 : Coefficient de corrélation de Pearson entre les caractéristiques du sol, de l'eau interstitielle du sol, la mobilité des ET et des nutriments, ainsi que la concentration interne dans les plantes. Les valeurs ne sont indiquées que si le coefficient de corrélation est significatif ($p < 0.05$), sinon n.s. est indiqué. n.m. indique des données et/ou une corrélation non mesurée.

Element	Mesure	Paramètre du sol		Paramètres de l' eau interstitielle		Disponibilité environnementale		Biodisponibilité environnementale
		pH		pH	Carbone organique dissous	Eau interstitielle	DGT	
N	CaCl ₂	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.m.	n.s.
	Eau interstitielle	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-	n.m.	n.s.
P	CaCl ₂	n.s.	n.s.	n.s.	0.41	0.47	n.s.	n.s.
	Eau interstitielle	-0.39	-0.24	-0.24	0.41	-	n.s.	n.s.
	DGT	n.s.	-0.53	-0.53	0.65	-	-	0.97
Zn	CaCl ₂	-0.82	-0.81	-0.81	0.65	0.76	0.79	-0.86
	Eau interstitielle	-0.73	-0.80	-0.80	n.s.	-	0.92	-0.87
	DGT	-0.81	-0.52	-0.52	n.s.	-	-	0.94
Cd	DGT	-0.88	-0.74	-0.74	n.s.	n.m.	-	0.92
Cu	CaCl ₂	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0.87	n.s.	n.s.
	Eau interstitielle	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-	n.s.	n.s.
	DGT	n.s.	n.s.	n.s.	-0.89	-	-	0.78

teneurs dans les parties aériennes des plantes ($r = 0.98$, $p < 0.05$). Les teneurs en phosphore dans l'eau interstitielle et extraites par DGT sont aussi positivement corrélées à la teneur en carbone organique dissous, avec des coefficients de corrélation de 0.41 et 0.65 respectivement ($p < 0.05$). En outre, la teneur en phosphore extraite par DGT est fortement corrélée à la concentration dans les feuilles des plantes.

Concernant les ET, les indicateurs de Zn et de Cd (CaCl_2 , eau interstitielle et DGT) présentent toujours une corrélation négative avec le pH de l'eau interstitielle, avec des coefficients de corrélation allant de -0.52 à -0.82. Par ailleurs, la teneur en Zn dans les extraits de CaCl_2 est aussi corrélée à la teneur en carbone organique dissous dans l'eau interstitielle ($r = 0.65$, $p < 0.05$). De plus, les différentes concentrations en Zn sont fortement intercorrélées, avec des coefficients allant de 0.76 à 0.92. La teneur en Zn mesurée dans les plantes est, elle, négativement corrélée aux concentrations dans les extraits de CaCl_2 et dans l'eau interstitielle du sol. Cependant, elle est fortement corrélée à la teneur dans les extraits DGT ($r = 0.94$, $p < 0.05$). De même, la teneur en Cd extraite par DGT est fortement corrélée à la teneur accumulée dans les parties aériennes. Enfin, pour le Cu, la teneur extractible par DGT est négativement corrélée à la teneur en carbone organique dissous dans l'eau interstitielle du sol, tandis que la teneur interne dans les plantes est positivement corrélée à la teneur dans les extraits DGT.

La disponibilité environnementale des nutriments est peu ou pas corrélée aux paramètres physico-chimiques du sol. Ainsi, le pH représente un facteur secondaire dans la régulation des flux de phosphore mais il n'influe pas sur les flux d'azote. En revanche, les enchytréides peuvent rendre accessible la fraction organique récalcitrante à la minéralisation par les micro-organismes en la concentrant dans les turricules (Pelosi & Römbke, 2016). Ces turricules constituent également des points chauds de l'activité microbienne, susceptibles d'être à l'origine de flux d'éléments nutritifs (Lang et al., 2023 ; van Vliet et al., 2004).

Les flux des ET semblent principalement influencés par les modifications du pH et du carbone organique dissous, induites par les plantes. En effet, l'augmentation du pH au niveau racinaire, liée aux activités d'échange des racines (Bravin et al., 2018), favorise l'immobilisation des métaux dans le sol (Sauvé et al., 2018). Cette immobilisation pourrait être le facteur expliquant la

diminution des concentrations et du BAF des ET chez les enchytréides. Cependant, les changements des caractéristiques physico-chimiques ne peuvent pas expliquer à eux seuls tous les changements observés. Notamment, l'augmentation de la mobilisation du Zn dans l'eau interstitielle sous la condition En suggère l'existence d'au moins un autre mécanisme de mobilisation des ET dans le sol (voir section 6.1.4), qui pourrait être associé à une interaction indirecte avec les communautés microbiennes.

6.1.6 Effet des enchytréides sur la croissance des plantes

Le poids sec moyen des parties aériennes des plantes est supérieur dans le traitement avec les annélides de grande taille (EaL) comparativement au témoin (L), avec une hausse significative de 32 % (test de Wilcoxon : $p < 0.05$). Cette différence significative indique une croissance accrue de la biomasse aérienne en présence des annélides. Cependant, le poids des parties racinaires ne montre pas de variation significative entre les deux conditions (test de Wilcoxon : $p > 0.05$), suggérant que l'effet des annélides se manifeste principalement au niveau de la biomasse aérienne.

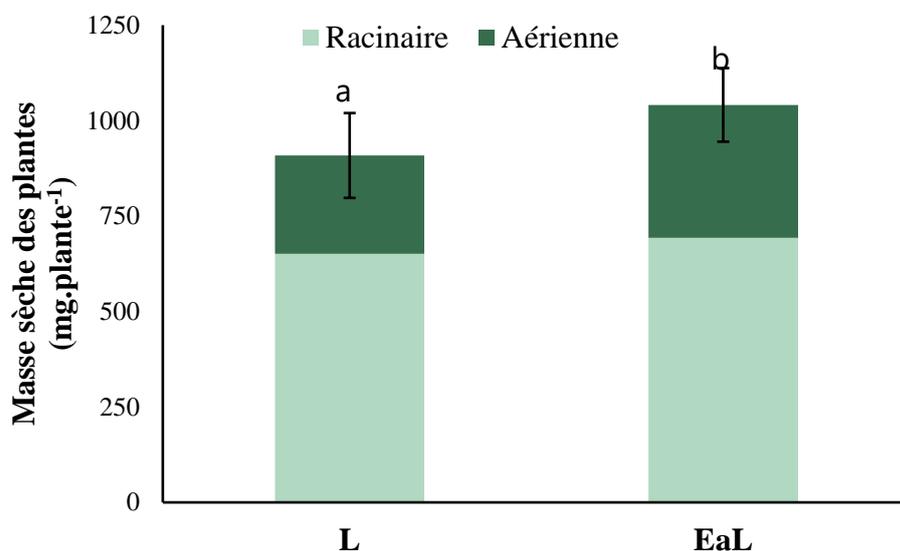


Figure 6.3 : Poids sec aérien (vert foncé) et souterrain (vert clair) par plante (mg.plante^{-1}) cultivée en présence de vers de terre (EaL) ou en leur absence (L). Les différences significatives sont indiquées par des lettres différentes (Wilcoxon : $p < 0.05$) pour chaque partie. $n = 5$.

6.1.7 Relation entre la croissance des plantes et les flux d'éléments

L'accroissement du poids de la partie aérienne des plantes est associé à trois facteurs : la concentration de phosphore, la concentration de cadmium, et la population d'enchytréides dans les cosmes (Eq. 6.1). Une corrélation positive existe entre la biomasse aérienne des plantes et la concentration de phosphore accessible, déterminée par extraction DGT, avec un coefficient de 5.56 ($p < 0.05$). À l'opposé, une corrélation négative est observée entre la biomasse aérienne et la concentration de cadmium accessible, avec un coefficient de -462 ($p < 0.05$). En outre, le nombre d'enchytréides présente une corrélation positive avec la biomasse aérienne, affichant un coefficient de 1.84 ($p < 0.01$).

$$Poids_{partie\ aérienne} = 5.56 \times P_{DGT} - 462.00 \times Cd_{DGT} + 1.84 \times Nb_{enchytréides} + 19.77$$

Equation 6.1 : Régression linéaire du poids de la partie aérienne des plantes en fonction des différents indicateurs de biodisponibilité des éléments, ainsi que de la biomasse totale en vers de terre dans les cosmes. Seules les valeurs significatives ($p < 0.05$) sont conservées dans l'équation. $R^2 = 0.82$

Le phosphore est fréquemment reconnu comme un élément limitant la croissance végétale (Elser et al., 2007). L'accroissement de sa disponibilité pour les plantes, facilité par l'activité des enchytréides, contribue à surmonter un obstacle majeur à leur développement. Les enchytréides, agissant à une échelle plus fine que les vers de terre (Pelosi & Römbke, 2016), ne provoquent pas d'abrasion significative sur le système racinaire en raison de leur taille réduite, contrairement aux vers de terre (Brown et al., 2004).

Concernant le cadmium, bien que ses concentrations demeurent en dessous des limites de phytotoxicité établies (Chaney, 1989), il est néanmoins associé à une diminution de la biomasse végétale (Li et al., 2019).

6.2 POTENTIEL DES ENCHYTREIDES DANS L'AMPLIFICATION DE L'EFFET DES VERS DE TERRE SUR LA CROISSANCE DES PLANTES

6.2.1 Densité des enchytréides et bioaccumulation des éléments traces métalliques

i. Résultat : Dénombrement des enchytréides

Le tableau 6.7 illustre les effectifs d'enchytréides aux points initiaux et finaux dans les microcosmes. Initialement, une biomasse identique d'environ 600 enchytréides a été inoculée dans les conditions EaEn et EaEnL (test de Wilcoxon : $p > 0.05$). Ces données sont conformes aux résultats exposés en 6.1.1 (Wilcoxon : $p > 0.05$). En fin d'expérience, le dénombrement dans les microcosmes EaEnL a révélé un nombre d'enchytréides stable (Wilcoxon : $p > 0.05$), avec une réduction non significative de 6%. Pour la condition EaEn, une diminution significative de 21% a été enregistrée (Wilcoxon : $p < 0.05$).

Tableau 6.7 : Dénombrement du nombre initial et final d'enchytréides. Le nombre d'enchytréides inoculés dans les cosmes ($n = 5$) est estimé à partir de la biomasse totale introduite (exprimée en mg ; $n = 5$). Le nombre total d'enchytréides présents dans chaque cosme à la fin de l'expérimentation ($n = 5$) est déduit du nombre d'enchytréides comptabilisés dans un échantillon de sol de 25 g ($n = 5$). Les données sont présentées sous la forme de la valeur moyenne \pm l'écart-type ; les valeurs estimées sont indiquées par un astérisque (*). Chaque paramètre a été analysé séparément et les différences significatives entre les groupes sont signalées par des lettres distinctes (Wilcoxon : $p < 0.05$).

Condition	Biomasse inoculée (mg)	Nombre d'enchytréides inoculés (nombre d'individus)	Nombre d'enchytréides dans les échantillons (nombre d'individus)	Nombre d'enchytréides final dans les cosmes (nombre d'individus)
EaEn	2 284.0 \pm 30.0 (a)	617 \pm 8 * (a)	60 \pm 7 (a)	487 \pm 53 * (b)
EaEnL	2 290.8 \pm 74.4 (a)	620 \pm 20 * (a)	72 \pm 16 (a)	580 \pm 128 * (ab)

ii. Résultat : Effet des vers de terre sur l'accumulation des ET par les enchytréides

Les concentrations de Zn, Cd et Cu dans les enchytréides sont récapitulées dans le tableau 6.8 pour les conditions EaEn et EaEnL.

Hormis pour le zinc dans la condition EaEnL, on note une hausse des concentrations en ET aux niveaux mesurés avant l'introduction des enchytréides dans le sol (Wilcoxon : $p < 0.05$). Les concentrations en ET dans la condition EaEn ne diffèrent pas de manière significative de ceux des conditions En (Wilcoxon : $p > 0.05$). De façon similaire, les concentrations en ET pour la condition EaEnL ne présentent pas de différences significatives avec la condition EnL (Wilcoxon : $p > 0.05$).

Tableau 6.8 : Concentration en ET ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) dans le corps des enchytréides des sols expérimentaux (EaEn, EaEnL) et des spécimens issus des cultures commerciales (NC) ($n=5$). Les données sont exprimées en tant que valeurs moyennes \pm écart-type. Chaque élément a été évalué individuellement et les différences significatives sont signalées par des lettres différentes au sein de chaque groupe (test de Wilcoxon : $p < 0.05$).

Elément	NC	EaEn	EaEnL
Zn ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	142.7 \pm 4.8 (a)	169.1 \pm 14.8 (b)	146.1 \pm 12.2 (a)
Cd ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	0.6 \pm 0.1 (a)	16.9 \pm 0.2 (b)	1.1 \pm 0.2 (c)
Cu ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	14.4 \pm 1.5 (a)	23.2 \pm 1.4 (b)	19.0 \pm 2.9 (b)

iii. Discussion : La présence de vers de terre réduit celle des enchytréides

La survie des vers de terre et les concentrations d'ET accumulés ne sont pas affectées par les enchytréides (résultats non présentés). Toutefois, une baisse du nombre d'enchytréides est constatée dans le sol en présence de vers de terre, sans augmentation des teneurs en ET chez les enchytréides retrouvés. Ceci indique que la réduction n'est pas due à une toxicité accrue du sol, en dépit des propositions de certains auteurs (Sizmur & Hodson, 2009).

Cette diminution est également rapportée dans des études *ex-situ* (Räty, 2004) et *in-situ* (Topoliantz et al., 2000) sur sols non contaminés. Par exemple, la population native d'enchytréides a été réduite par cinq en présence de *Lumbricus terrestris* et *A. caliginosa*, mais est restée stable sans vers de terre après 60 semaines (Räty, 2004). Topoliantz et al. (2000) ont observé une tendance similaire en examinant les populations dans divers systèmes agricoles. Il semble que la densité de vers de terre influence davantage les enchytréides que les conditions pédologiques. Cette baisse pourrait résulter d'une compétition pour les ressources alimentaires

(Didden, 1991). Plus largement, l'introduction de vers de terre dans un écosystème peut altérer la biodiversité du sol et mener à l'extinction de certains taxons (Ferlian et al., 2018).

6.2.2 Effets des interactions entre deux groupes d'annélides sur les caractéristiques physico-chimiques du sol et de l'eau interstitielle en présence d'enchytréides

Le tableau 6.9 illustre l'impact des vers de terre et des enchytréides sur les variations des propriétés du sol et de l'eau interstitielle durant l'expérimentation.

Le pH du sol est modifié uniquement par les vers de terre, entraînant une réduction de 0.63 unité de pH (Tukey-HSD : $p < 0.05$), tout comme celui de l'eau interstitielle avec une baisse de 0.69 unité de pH (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Cependant, la coexistence des vers de terre et des enchytréides entraîne une diminution moindre de 38 % du pH du sol, soit une réduction de 0.39 unité de pH (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Une baisse similaire pour le pH de l'eau interstitielle a été observée dans la condition EaEn, comparée à celle en présence uniquement de vers de terre (Tukey-HSD : $p > 0.05$).

La conductivité du sol et de l'eau interstitielle, ainsi que la concentration en carbone organique dissous dans l'eau interstitielle, sont influencées tant par les vers de terre seuls (Ea) que par les enchytréides (En). Néanmoins, en présence conjointe des deux annélides, l'augmentation observée pour la conductivité est comparable à celle de la condition Ea pour le sol et l'eau interstitielle (Tukey-HSD : $p > 0.05$), avec une hausse de 55.65 μS pour la conductivité du sol (EaEn) et de 170.12 μS pour celle de l'eau interstitielle. De la même manière, l'accroissement de 35.65 mg.L^{-1} en carbone organique dissous dans l'eau interstitielle de la condition EaEn correspond à celui de la condition Ea (Tukey-HSD : $p < 0.05$).

En présence de plantes, les enchytréides, seuls ou en interaction, ne présentent aucun effet significatif (test-t : $p > 0.05$), à l'exception de la concentration accrue en carbone organique dissous dans la condition EaEnL (test-t : $p < 0.05$).

Lorsque les deux types d'annélides interagissent, le sol et l'eau interstitielle évoluent comme s'il y avait uniquement des vers de terre dans les pots. Il en résulte une superposition des effets,

Chapitre 6 : Les enchytréides, un nouvel organisme pour l'interaction plante - annélides

les vers de terre et les enchytréides influençant de manière similaire certains indicateurs, tels que la conductivité et la teneur en carbone organique. Bien que les enchytréides et les vers de terre aient des rôles écologiques similaires, ils opèrent à différentes échelles spatiales (van Vliet et al., 1993 ; Didden & Marinissen, 1994). Les modifications apportées par les enchytréides pourraient être retravaillées par l'action des vers de terre, affectant ainsi le sol à une échelle plus grande. Par ailleurs, les enchytréides, qui consomment la matière organique présente dans les galeries et les excréments des vers de terre (Pelosi & Römbke, 2016), pourraient diminuer leur consommation de sol non modifié, réduisant de ce fait leur impact sur celui-ci.

Tableau 6.9 : Effet des annélides sur les paramètres physico-chimiques du sol et de l'eau interstitielle. Les variations attribuables aux différents annélides sont calculées en soustrayant la variation moyenne observée dans la condition contrôle correspondante (S pour les conditions Ea, En et EaEn ; L pour les conditions EaL, EnL, EaEnL) de la différence entre la valeur finale et la valeur initiale. Les différences significatives entre les conditions sont indiquées par des lettres distinctes pour chaque espèce chimique, selon le test de Tukey-HSD ($p < 0.05$). Un astérisque (*) signale un effet des annélides significativement différent de celui de la condition contrôle correspondante, déterminé par un t-test ($p < 0.05$). Les données sont présentées sous la forme valeur moyenne \pm écart-type, avec $n = 5$.

		Sol		eau interstitielle du sol		
		pH (unité pH)	Conductivité (μS)	pH (unité pH)	Conductivité (μS)	Carbone organique dissous (mg.L^{-1})
Ea + En	Ea	-0.63 ± 0.14 (a)*	44.93 ± 12.08 (a)*	-0.69 ± 0.18 (a)*	161.93 ± 24.36 (a)*	18.93 ± 10.83 (ab)*
	En	-0.02 ± 0.21 (b)	21.61 ± 7.68 (b)*	0.03 ± 0.12 (b)	57.38 ± 11.80 (b)*	31.61 ± 7.68 (a)*
	Total	-0.65 ± 0.17 (a)*	66.54 ± 9.54 (c)*	-0.66 ± 0.14 (a)*	219.31 ± 18.04 (c)*	50.54 ± 8.85 (c)*
EaL + EnL	EaL	0.17 ± 0.28 (b)	8.23 ± 10.45 (b)	-0.07 ± 0.15 (b)	-34.11 ± 28.85 (d)	8.23 ± 10.45 (b)
	EnL	0.11 ± 0.21 (b)	5.51 ± 8.81 (b)	-0.03 ± 0.17 (b)	11.87 ± 13.70 (d)	5.51 ± 8.81 (b)
	Total	0.28 ± 0.23 (b)	13.73 ± 9.11 (b)	-0.10 ± 0.15 (b)	-22.24 ± 21.29 (e)*	13.73 ± 9.11 (b)
EaEn	-0.39 ± 0.15 (c)*	55.65 ± 9.40 (ac)*	-0.58 ± 0.10 (a)*	170.12 ± 30.36 (a)*	35.65 ± 9.40 (a)*	
EaEnL	-0.01 ± 0.11 (b)	17.16 ± 10.56 (b)	0.09 ± 0.21 (b)	-8.32 ± 25.33 (d)	17.16 ± 10.56 (b)*	

En présence de plantes, ce sont ces dernières qui semblent occulter les effets des annélides, qu'ils soient isolés ou en interaction. En conséquence, aucune contribution notable des annélides à la modification des propriétés du sol et de l'eau interstitielle n'a été mise en évidence dans un tel contexte.

6.2.3 Effet de l'interaction des deux groupes d'annélides sur les flux nutritifs

i. Disponibilité environnementale des nutriments

Les variations des concentrations en azote et en phosphore, dues à la présence des annélides dans les extraits de CaCl_2 et l'eau interstitielle, sont présentées dans la Figure 6.4. Lorsque les annélides sont présents seuls, les deux groupes augmentent les concentrations finales en azote dans les extraits de CaCl_2 (Ea, EaL, En, EnL) et dans l'eau interstitielle (Ea, En), avec une augmentation plus marquée induite par les vers de terre (Tukey-HSD : $p < 0.05$). En présence conjointe des deux groupes d'annélides, l'augmentation des concentrations en azote est similaire à celle observée avec uniquement les vers de terre (Tukey-HSD : $p < 0.05$) pour les deux types d'extraction.

Quant aux teneurs en phosphore, l'effet des enchytréides est négligeable tant dans les extraits de CaCl_2 que dans l'eau interstitielle (Tukey-HSD : $p > 0.05$). Seuls les vers de terre provoquent une modification significative des concentrations en phosphore (Tukey-HSD : $p < 0.05$).

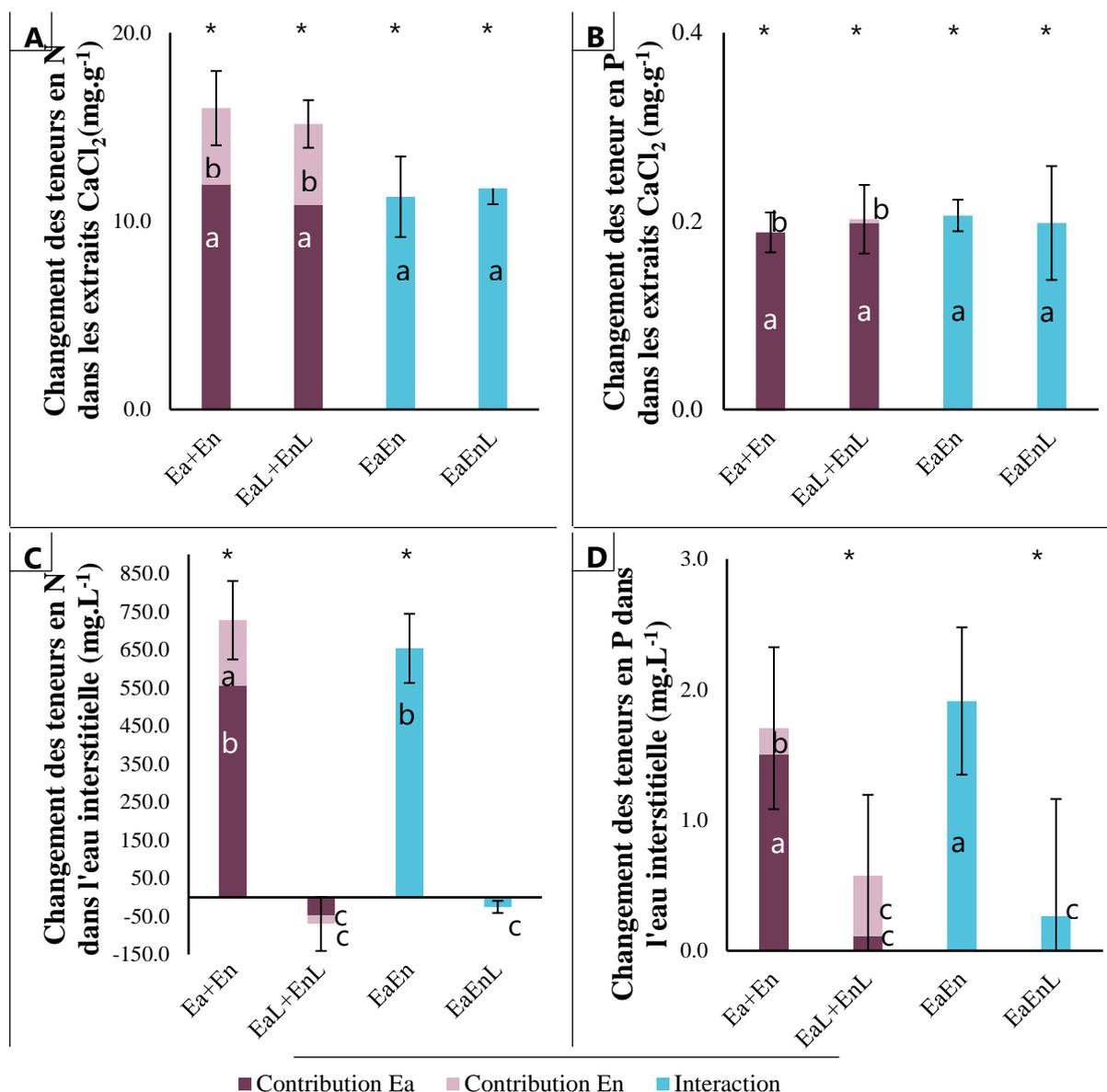


Figure 6.4 : Effet théorique (Ea+En et EaL+EnL) et mesuré (EaEn et EaEnL) de l'interaction entre les annélides sur la disponibilité environnementale des nutriments. Les variations attribuables aux différents annélides sont calculées en soustrayant la variation moyenne observée dans la condition contrôle correspondante (S pour les conditions Ea, En et EaEn ; L pour les conditions EaL, EnL, EaEnL) de la différence entre la valeur finale et la valeur initiale. Les différences significatives entre les conditions (Tukey-HSD : $p < 0.05$) sont indiquées par des lettres différentes pour chaque espèce chimique. L'effet des annélides est signalé par un astérisque (*) lorsque le facteur est significativement différent de celui de la condition contrôle correspondante (test-t : $p < 0.05$). Les données sont présentées sous la forme valeur moyenne \pm écart-type, $n = 5$.

ii. Biodisponibilité environnementale des nutriments

La biodisponibilité environnementale du phosphore est estimée à travers trois mesures : une extraction DGT sur des échantillons de sols frais, la concentration en phosphore dans les parties aériennes des plantes et enfin la minéralomasse en phosphore des parties aériennes des plantes. La biodisponibilité environnementale de l'azote est estimée à travers la concentration en azote dans les parties aériennes des plantes et la minéralomasse en azote des parties aériennes des plantes. Ces résultats sont présentés dans le tableau 6.10.

Concernant le phosphore, les deux groupes d'annélides peuvent augmenter les teneurs extractibles par DGT (Tukey-HSD : $p < 0.05$). En absence de plantes, la présence d'enchytréides induit une augmentation trois fois plus faible que celle induite par les vers de terre (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Lorsque les annélides sont en interaction, une augmentation similaire à celle de la condition Ea est observée (Tukey-HSD : $p > 0.05$). En présence de plantes, une augmentation plus faible des teneurs en phosphore extractible est observée pour toutes les conditions (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Lorsque les annélides sont en interaction (EaEnL), l'augmentation de la teneur extractible en phosphore est comparable à la somme des effets individuels des annélides (EaL + EnL) (Tukey-HSD : $p > 0.05$).

Concernant la concentration et la minéralomasse en phosphore, les enchytréides et les vers de terre, lorsqu'ils sont seuls (Ea et En), induisent une augmentation similaire de ces deux indicateurs (Wilcoxon : $p > 0.05$) avec une augmentation de la concentration interne de l'ordre de 0.94 mg.g^{-1} et d'une augmentation de l'ordre de $0.70 \text{ mg.plante}^{-1}$ pour la minéralomasse des feuilles. Lorsqu'ils sont en interaction, une augmentation de la concentration interne similaire aux effets individuels est observée avec une augmentation de 0.92 mg.g^{-1} , alors que l'augmentation de la minéralomasse correspond à la somme des effets individuels avec une augmentation de $1.49 \text{ mg.plante}^{-1}$ (Wilcoxon : $p > 0.05$).

Chapitre 6 : Les enchytréides, un nouvel organisme pour l'interaction plante - annélides

Tableau 6.10 : Estimation de la biodisponibilité de l'azote et du phosphore à travers les variations des teneurs en phosphore extraites par DGT sur des échantillons de sol frais collectés au début (T_0) et à la fin de l'expérimentation (T_1) ainsi que les changements de concentrations accumulées en azote et en phosphore dans les feuilles des plantes et leur minéralomasse. Les valeurs sont présentées sous la forme valeur \pm écart-type. Les différences significatives sont représentées par différentes lettres pour chaque mesure et espèce chimique ($p < 0.05$; DGT-P : Tukey-HSD; concentration N : test-t ; concentration P : test-t ; minéralomasse N : Wilcoxon ; minéralomasse P : test-t). L'effet des annélides est signifié par * lorsque le facteur est significativement différent de celui de la condition contrôle correspondante ($p < 0.05$; test-t : DGT-P, Concentration N, Concentration P, minéralomasse P ; Wilcoxon : minéralomasse N)

Nutriment	Condition	Variation dans les extraits DGT ($\mu\text{g.sampler}^{-1}$)	Teneur dans les parties aériennes		
			Concentration (mg.g^{-1})	Minéralomasse (mg.plante^{-1})	
N	EaL		5.72 \pm 0.38 (a)*	8.07 \pm 3.38 (a)*	
	EaL + EnL	EnL	1.16 \pm 0.97 (b)	5.07 \pm 2.48 (b)*	
		Total	6.88 \pm 0.69 (ac)*	13.15 \pm 2.79 (c)*	
	EaEnL		7.02 \pm 1.19 (c)*	17.61 \pm 2.79 (d)*	
P	Ea + En	Ea	0.90 \pm 0.12 (a)*		
		En	0.30 \pm 0.06 (b)*		
		Total	1.20 \pm 0.09 (c)*		
	EaL + EnL	EaL	0.52 \pm 0.11 (d)*	0.94 \pm 0.09 (a)*	0.77 \pm 0.25 (a)*
		EnL	0.15 \pm 0.05 (e)*	0.94 \pm 0.52 (a)*	0.66 \pm 28 (a)*
		Total	0.67 \pm 0.08 (f)*	1.88 \pm 0.35 (b)*	1.43 \pm 0.25 (b)*
	EaEn		0.86 \pm 0.06 (a)*		
	EaEnL		0.72 \pm 0.07 (f)*	0.92 \pm 0.46 (a)*	1.49 \pm 0.32 (b)*

Lorsque les annélides sont seuls, les vers de terre augmentent à la fois la concentration et la minéralomasse en azote dans les feuilles des plantes, tandis qu'une augmentation de la minéralomasse est observée en présence d'enchytréides. Cependant, lorsque les deux groupes d'annélides sont présents simultanément dans le pot (EaEnL), une augmentation de la teneur en azote plus importante que l'effet seul des vers de terre (EaL) est mesurée (Tukey-HSD : $p < 0.05$). De plus, une plus grande augmentation de la minéralomasse est mesurée par rapport à l'effet théorique additionné des deux annélides (EaL + EnL), montrant un effet synergique (Tukey-HSD : $p < 0.05$).

En l'absence de plantes, nous avons constaté que les vers de terre et les enchytréides ne modifient pas la biodisponibilité des nutriments avec les mêmes ordres de grandeur. Toutefois, les mécanismes sous-jacents à ces modifications sont différents (voir section 6.1).

Tandis que pour le phosphore, une superposition des effets est observée pour les teneurs extractibles par DGT, pour la concentration dans les feuilles, c'est une additivité des effets qui est notée pour la minéralomasse. De même, pour la teneur en azote, une additivité des effets est constatée et un effet synergique ($EaEnL > EaL + EnL$) pour la minéralomasse. Ces résultats suggèrent que la stimulation de l'absorption des nutriments par la plante est induite par des mécanismes différents chez les vers de terre et les enchytréides. Ils indiquent également que le recyclage des nutriments par les enchytréides et les vers de terre est complémentaire. Ceci pourrait être lié à une complémentarité fonctionnelle opérant à deux échelles différentes (van Vliet et al., 1993 ; Didden & Marinissen, 1994).

6.2.4 Effet de l'interaction des deux groupes d'annélides sur les flux d'éléments traces métalliques

i. Disponibilité environnementale des éléments traces métalliques

Contrairement aux vers de terre, qui influencent les teneurs en Cu et Zn dans les extraits de $CaCl_2$ et dans l'eau interstitielle (Figure 6.5), les enchytréides n'affectent significativement que les teneurs en Zn (Tukey-HSD : $p < 0.05$). En interaction avec les vers de terre, le rôle des enchytréides dans le déplacement du Zn du sol vers l'eau interstitielle semble cependant être négligeable, affichant des valeurs similaires à la condition Ea (Tukey-HSD : $p > 0.05$).

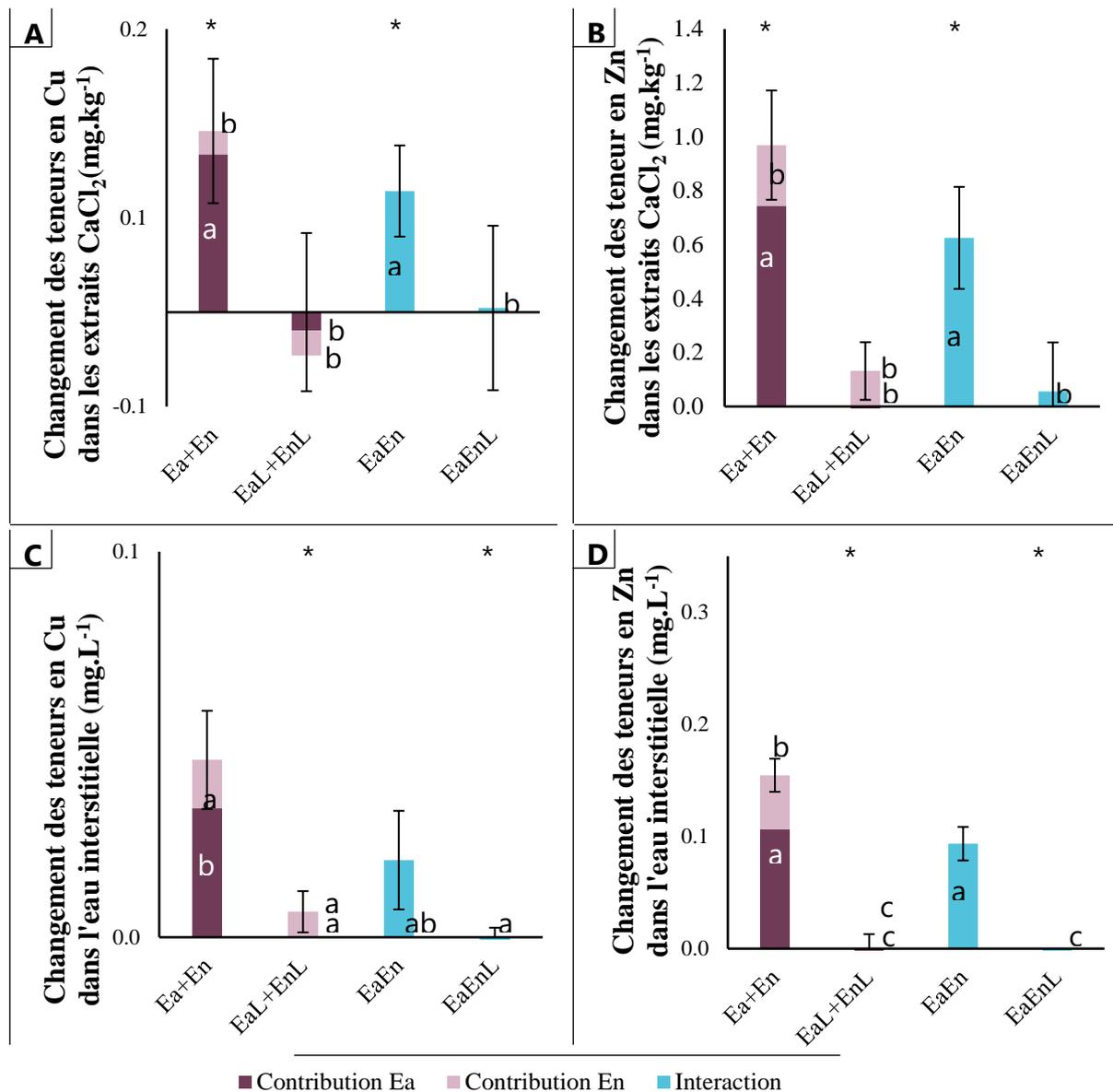


Figure 6.5 : Effet théorique (Ea+En et EaL+EnL) et mesuré (EaEn et EaEnL) de l'interaction entre les annélides sur la disponibilité environnementale des ET. Les variations liées aux différents annélides sont calculées à partir de la différence entre la valeur finale et initiale à laquelle est retirée la variation moyenne observée dans la condition contrôle correspondante (S pour les conditions Ea, En et EaEn ; L pour les conditions EaL, EnL, EaEnL). Les différences significatives entre les conditions sont représentées par différentes lettres pour chaque espèce chimique ($p < 0.05$; Tukey-HSD : Cu CaCl_2 , Zn CaCl_2 , Zn SPW ; Wilcoxon : Cu SPW). L'effet des annélides est signifié par * lorsque le facteur est significativement différent de celui de la condition contrôle correspondante ($p < 0.05$; t-test : Cu CaCl_2 , Zn CaCl_2 , Zn SPW ; Wilcoxon : Cu SPW), $n = 5$.

ii. Biodisponibilité environnementale des éléments traces métalliques

Résultats : teneurs extractibles par DGT, concentrations accumulées dans les parties aériennes et minéralomasse du cuivre.

Le tableau 6.11 présente les variations des indicateurs de biodisponibilité du Cu en lien avec l'interaction entre les annélides. Lorsque les deux annélides sont seuls (Ea et En) ou en interaction

Potentiel des enchytréides dans l'amplification de l'effet des vers de terre sur la croissance des plantes

(EaEn), une même augmentation des teneurs extractibles en Cu par DGT est observée (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Cependant, en présence de plantes, aucun effet significatif des annélides n'est noté (Tukey-HSD : $p > 0.05$).

*Tableau 6.11 : Estimation de la biodisponibilité du Cu à travers les changements des teneurs en Cu extraites par DGT sur des échantillons de sol frais collectés au début (T_0) et à la fin de l'expérimentation (T_f) ainsi que les changements de concentrations accumulées en Cu dans les feuilles des plantes et leur minéralomasse. Les valeurs sont présentées sous la forme valeur \pm écart-type. Les différences significatives sont représentées par différentes lettres pour chaque mesure (Tukey-HSD : $p < 0.05$). L'effet des annélides est signifié par * lorsque le facteur est significativement différent de celui de la condition contrôle correspondante (test-t : $p < 0.05$).*

Nutriment	Condition	Variation du Cu dans les extraits DGT ($\mu\text{g}\cdot\text{sampler}^{-1}$)	Teneur dans les parties aériennes		
			Concentration ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	Minéralomasse ($\text{mg}\cdot\text{plante}^{-1}$)	
Cu	Ea	0.1 \pm 0.05 (a)*			
	Ea + En	En	0.14 \pm 0.06 (a)*		
		Total	0.24 \pm 0.05 (b)*		
	EaL + EnL	EaL	0.02 \pm 0.09 (ac)	3.69 \pm 2.88 (a)	3.2 \pm 1.94 (a)*
		EnL	0.02 \pm 0.09 (ac)	7.9 \pm 1.39 (b)*	4.1 \pm 0.74 (a)*
		Total	0.04 \pm 0.08 (cd)	11.59 \pm 2.13 (c)*	7.31 \pm 1.39 (b)*
	EaEn	0.09 \pm 0.04 (ad)*			
	EaEnL	0 \pm 0.05 (c)	3.69 \pm 2.88 (a)	5.99 \pm 0.53 (c)*	

Dans la partie aérienne, seuls les enchytréides (EnL) induisent une augmentation de la teneur en Cu (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Cet effet disparaît lorsque les deux annélides interagissent. Les enchytréides (EnL) et les vers de terre (EaL) sont chacun capables d'augmenter séparément la minéralomasse en Cu dans les parties aériennes des plantes (Tukey-HSD : $p < 0.05$), dans une mesure similaire. Toutefois, lorsqu'ils sont en interaction (EaEnL), une minéralomasse en Cu plus élevée est observée (Tukey-HSD : $p < 0.05$) par rapport à l'effet de chaque annélide pris individuellement.

Chapitre 6 : Les enchytréides, un nouvel organisme pour l'interaction plante - annélides

Résultats : teneurs extractibles par DGT, concentrations accumulées dans les parties aériennes et minéralomasse du zinc.

Le tableau 6.12 présente les variations des indicateurs de biodisponibilité du Zn en lien avec l'interaction entre les annélides. En l'absence de plantes, les deux annélides, qu'ils soient isolés ou en interaction, induisent une augmentation des teneurs extractibles en Zn par DGT (Tukey-HSD : $p < 0.05$). L'augmentation induite par les enchytréides est cependant plus faible que celle provoquée par les vers de terre (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Lorsque les deux oligochètes sont associés, l'augmentation des teneurs en Zn semble correspondre à la moyenne des effets de chaque groupe pris individuellement (Ea+En divisé par deux).

Tableau 6.12 : Estimation de la biodisponibilité du Zn à travers les changements des teneurs en Zn extraites par DGT sur des échantillons de sol frais collectés au début (T_0) et à la fin de l'expérimentation (T_f) ainsi que les changements de concentrations accumulées en Zn dans les feuilles des plantes et leur minéralomasse. Les valeurs sont présentées sous la forme valeur \pm écart-type. Les différences significatives sont représentées par différentes lettres pour chaque mesure (Tukey-HSD : $p < 0.05$). L'effet des annélides est signifié par * lorsque le facteur est significativement différent de celui de la condition contrôle correspondante (test-t : $p < 0.05$).

Nutriment	Condition	Variation dans les extraits DGT ($\mu\text{g.sampler}^{-1}$)	Teneur dans les parties aériennes		
			Concentration (mg.g^{-1})	Minéralomasse (mg.plante^{-1})	
Zn	Ea	2.98 \pm 0.25 (a)*			
	Ea + En	En	0.55 \pm 0.22 (b)*		
		Total	3.53 \pm 0.22 (c)*		
	EaL + EnL	EaL	-0.01 \pm 0.2 (d)	-21.04 \pm 10.58 (a)*	10.98 \pm 6.88 (a)*
		EnL	-0.12 \pm 0.29 (d)	4.59 \pm 22.24 (a)	16.66 \pm 10.87 (ab)*
		Total	-0.13 \pm 0.23 (d)	-16.46 \pm 16.42 (a)*	27.63 \pm 8.58 (bc)*
	EaEn	1.61 \pm 0.2 (e)*			
	EaEnL	0 \pm 0.27 (d)	4.59 \pm 22.24 (a)	47.84 \pm 19.12 (c)*	

En présence de plantes, aucun changement significatif des teneurs en Zn dans les extraits DGT n'a été observé en relation avec la présence des annélides pour toutes les conditions testées (Tukey-HSD : $p > 0.05$). Bien que les enchytréides seuls (EnL) ou en interaction (EaEnL) n'influencent pas la concentration en Zn dans la partie aérienne, leur présence induit une

Potentiel des enchytréides dans l'amplification de l'effet des vers de terre sur la croissance des plantes

augmentation de la minéralomasse en Zn (Tukey-HSD : $p < 0.05$). L'effet des enchytréides seuls (EnL) est comparable à celui des vers de terre (EaL), mais lorsque les annélides interagissent (EaEnL), l'augmentation de la minéralomasse en Zn est similaire à la somme des effets individuels des deux types d'annélides (EaL + EnL) (Tukey-HSD : $p > 0.05$).

Tableau 6.13 : Estimation de la biodisponibilité du Cd à travers les changements des teneurs en Cd extraites par DGT sur des échantillons de sol frais collectés au début (T_0) et à la fin de l'expérimentation (T_f) ainsi que les changements de concentrations accumulées en Cd dans les feuilles des plantes et leur minéralomasse. Les valeurs sont présentées sous la forme valeur \pm écart-type. Les différences significatives sont représentées par différentes lettres pour chaque mesure ($p < 0.05$; Tukey-HSD : Concentration, Minéralomasse ; Wilcoxon : DGT). L'effet des annélides est signifié par * lorsque le facteur est significativement différent de celui de la condition contrôle correspondante ($p < 0.05$; Test-t : Concentration, Minéralomasse ; Wilcoxon : DGT).

Nutriment	Condition	Variation dans les extraits DGT ($\mu\text{g.sampler}^{-1}$)	Teneur dans les parties aériennes		
			Concentration (mg.g^{-1})	Minéralomasse (mg.plante^{-1})	
Cd	Ea	0.1 \pm 0.02 (a)*			
	Ea + En	En	0.07 \pm 0.02 (b)*		
		Total	0.17 \pm 0.02 (c)*		
	EaL + EnL	EaL	-0.03 \pm 0.01 (d)*	0.2 \pm 0.24 (a)	0.18 \pm 0.06 (a)*
		EnL	-0.02 \pm 0.01 (d)*	0.15 \pm 0.24 (a)	0.14 \pm 0.09 (a)*
		Total	-0.05 \pm 0.01 (e)*	0.35 \pm 0.23 (a)*	0.32 \pm 0.07 (b)*
	EaEn	0.1 \pm 0.01 (a)*			
	EaEnL	-0.01 \pm 0.02 (d)	0.1 \pm 0.22 (a)	0.32 \pm 0.16 (ab)*	

Résultats : teneurs extractibles par DGT, concentrations accumulées dans les parties aériennes et minéralomasse du cadmium.

Le tableau 6.13 présente les variations des indicateurs de biodisponibilité du Cd en lien avec l'interaction entre les annélides.

En l'absence de plantes, une augmentation des teneurs en Cd extractibles par DGT est induite à la fois par les vers de terre (Ea) et les enchytréides (En), avec un effet plus marqué de la part des vers de terre (Tukey-HSD : $p < 0.05$).

En présence de plantes, la présence d'annélides isolément (EaL ou EnL) entraîne une légère diminution des teneurs extractibles par DGT (Wilcoxon : $p < 0.05$). Cependant, cet effet disparaît lorsque les deux groupes d'annélides sont présents simultanément (EaEnL) dans le pot (Wilcoxon : $p > 0.05$). Par contre, la présence d'annélides, seuls ou en interaction, n'influence pas la concentration en Cd dans les feuilles (Tukey-HSD : $p > 0.05$), mais entraîne une augmentation de la minéralomasse en Cd (Tukey-HSD : $p < 0.05$). Lorsque les vers de terre et les enchytréides interagissent (EaEnL), l'augmentation de la minéralomasse en Cd semble correspondre à la somme des effets individuels (EaL + EnL) (Tukey-HSD : $p > 0.05$).

Discussion : Effet de l'interaction entre les annélides sur les flux d'ET

Tout comme pour les nutriments, les enchytréides influencent, dans une moindre mesure, la disponibilité environnementale des ET en comparaison avec l'impact des vers de terre. Lorsque les deux groupes d'annélides interagissent, les vers de terre occultent l'effet des enchytréides, induisant une augmentation similaire à celle observée lorsqu'ils agissent seuls.

En ce qui concerne la biodisponibilité des ET, les réponses varient selon les mesures. Alors que les deux groupes d'annélides augmentent les teneurs extractibles par DGT pour les trois ET, les vers de terre éclipsent l'effet des enchytréides lorsqu'ils sont en interaction. De manière générale, les concentrations d'ET dans les feuilles des plantes ne sont pas affectées par la présence des annélides dans le sol. Cependant, les minéralomasses sont systématiquement accrues. Cette augmentation peut s'expliquer par la dilution des ET due à la croissance accrue des plantes (voir Section 6.2.6). Cette dilution ne semble pas constituer un mécanisme de détoxification des ET (Antoniadis et al., 2017 ; Chaney et al., 2010 ; Baker et al., 2000), mais plutôt un effet indirect de la stimulation de la croissance végétale (Blouin et al., 2013). De plus, l'augmentation observée lorsque les annélides interagissent correspond à la somme des effets individuels. Ces résultats suggèrent que les enchytréides et les vers de terre favorisent l'absorption des ET par les plantes via des mécanismes distincts. Tandis que les vers de terre modifient principalement les flux de

contaminants par la modification des propriétés physico-chimiques du sol (Sizmur & Hodson, 2009), les enchytréides pourraient accroître les flux d'ET par une interaction indirecte avec la communauté microbienne (Bolan et al., 2013 ; Adriano et al., 2004 ; Ahalya et al., 2003) (voir Section 6.1).

6.2.5 Effet de l'interaction entre les annélides sur la croissance des plantes

L'impact de l'interaction entre les annélides sur la croissance des plantes est illustré dans la Figure 6.6. Les enchytréides et les vers de terre, lorsqu'ils agissent seuls (EnL et EaL respectivement), induisent une augmentation du poids de la partie aérienne de l'ordre de grandeur similaire (Wilcoxon : $p > 0.05$). Lorsque les annélides interagissent, une augmentation du poids de la partie aérienne est observée, qui dépasse la somme des effets individuels (Wilcoxon : $p < 0.05$).

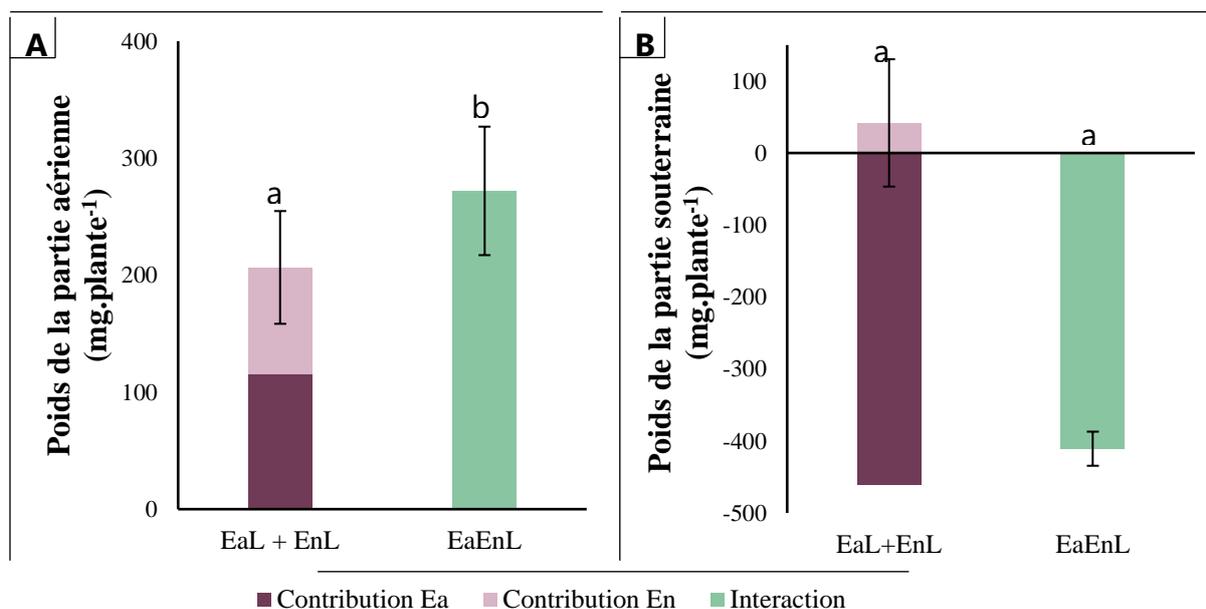


Figure 6.6 : Effet théorique (EaL+EnL) et mesuré (EaEnL) de l'interaction entre les annélides sur le poids sec des parties aériennes (A) et racinaires (B) des plantes. Les différences significatives entre les conditions sont représentées par différentes lettres (Wilcoxon : $p < 0.05$), $n = 5$.

Tandis que les enchytréides n'affectent pas le poids racinaire, les vers de terre, qu'ils soient seuls (EaL) ou en interaction avec les enchytréides (EaEnL), induisent une diminution de ce dernier (Wilcoxon : $p < 0.05$).

La présence simultanée des enchytréides et des vers de terre induit une augmentation de la croissance de la partie aérienne des plantes et une diminution de la partie racinaire. Alors que la diminution est imputable à l'abrasion des racines par les vers de terre (Chapitre 3 ; Chapitre 5 ; [Brown et al., 2004](#)), les effets observés sur la partie aérienne découlent de la présence conjointe des vers de terre et des enchytréides. En effet, l'augmentation observée est supérieure à celle des effets individuels des vers ou des enchytréides, et également à la somme de ces effets, suggérant un effet synergique. Ces résultats impliquent que la présence des enchytréides seuls (EnL) permet de compenser l'absence de vers de terre (EaL) dans un sol lorsque l'on s'intéresse à la croissance des parties aériennes. Cependant, cette stimulation résulte de mécanismes différents entre les vers de terre et les enchytréides (voir 6.1), ce qui permet, lors de l'inoculation des deux groupes d'annélides, de générer des effets synergiques sur la croissance des plantes. Ces effets synergiques ont déjà été mentionnés dans la littérature lors de l'inoculation de deux écotypes de vers de terre différents ([Blouin et al., 2013](#)), suggérant une complémentarité fonctionnelle des annélides. Cette effet synergique pourrait également être lié à une distribution différentes des organismes dans le sol. En effet, alors que les vers de terre endogés seraient principalement localisés dans le sol grossier (*bulk*) ([Bouché, 1977](#)), les enchytréides seraient proches des *hot-spots* microbiens dont la surface racinaire ([Pelosi & Römbke, 2016](#)). Cette différence de localisation pourrait ainsi induire une plus grande stimulation des activités microbiennes.

6.3 CONCLUSION PARTIELLE

Les enchytréides sont des organismes capables de se développer dans un sol contaminé. Leur croissance est favorisée par la présence de plantes qui réduisent les flux de contaminants, mais est impactée négativement par la présence de vers de terre.

Il a été démontré que la présence d'enchytréides induit une augmentation de la croissance aérienne des plantes sans affecter négativement le développement de la partie racinaire, contrairement aux vers de terre. Bien que ce résultat suggère un rôle similaire à celui des vers de

terre, les mécanismes responsables de cette augmentation diffèrent. Les vers de terre influencent la spéciation des nutriments pour stimuler la croissance, tandis que les mécanismes par lesquels les enchytréides induisent cette augmentation sont différents et demeurent inexplorés. De plus, les vers de terre sont principalement bénéfiques pour la nutrition azotée des plantes, alors que dans nos conditions les enchytréides favorisent l'absorption de phosphore.

En interaction, les vers de terre exerce un effet négatif sur les enchytréides, limitant le nombre d'individus retrouvé. Les enchytréides ont également une empreinte moindre sur le sol que celle des vers de terre, principalement expliqué par la différence de taille entre les organismes. dominant l'influence sur les paramètres physico-chimiques du sol ainsi que sur la biodisponibilité des nutriments. Cependant, les enchytréides contribuent également à améliorer l'absorption des nutriments par les plantes, créant un effet synergique sur la croissance aérienne.

En ce qui concerne la contamination, les enchytréides exercent un effet plus sélectif sur l'augmentation des flux d'ET dans le sol et ce, dans une moindre mesure que les vers de terre. Contrairement à ces derniers, les enchytréides ne redirigent pas une partie des flux d'ET, entraînant ainsi une accumulation accrue dans les plantes. Malgré cette augmentation, aucun effet toxique aigu n'a été observé sur les plantes.

Jusqu'à maintenant cette interaction annélides plantes a été observée dans un volume restreint de sol (pot) forçant les interactions entre organismes. Dans le chapitre suivant, un dispositif en rhizotron sera utilisé pour étudier l'effet de la distribution des organismes le long d'un profil de sol et leur impact sur cette interaction annélides – plantes.

7. CHAPITRE 7 : IMPORTANCE DE LA LOCALISATION DES ORGANISMES POUR L'INTERACTION ANNELIDES - PLANTE

Dans ce chapitre, nous examinerons l'importance de la localisation des organismes dans le sol au sein de l'interaction entre les plantes et les annélides. Nous comparerons la localisation des enchytréides et des vers de terre en relation avec la couche racinaire, ainsi que leur influence sur la croissance des plantes. Nous aborderons les questions suivantes : la cohabitation de différents groupes d'annélides dans le sol peut-elle modifier leur distribution ? , et 2/ une variation dans la distribution des annélides peut-elle avoir un impact sur leur capacité à stimuler la croissance végétale ? Nous nous appuyerons sur les résultats de l'expérience E (cf. chapitre 2) pour tester deux hypothèses : 1/ les organismes interagissent et ajustent leur répartition dans le sol en conséquence, et, 2/ une proximité spatiale entre les annélides et les racines est nécessaire pour que l'interaction entre les annélides et les plantes s'exprime pleinement.

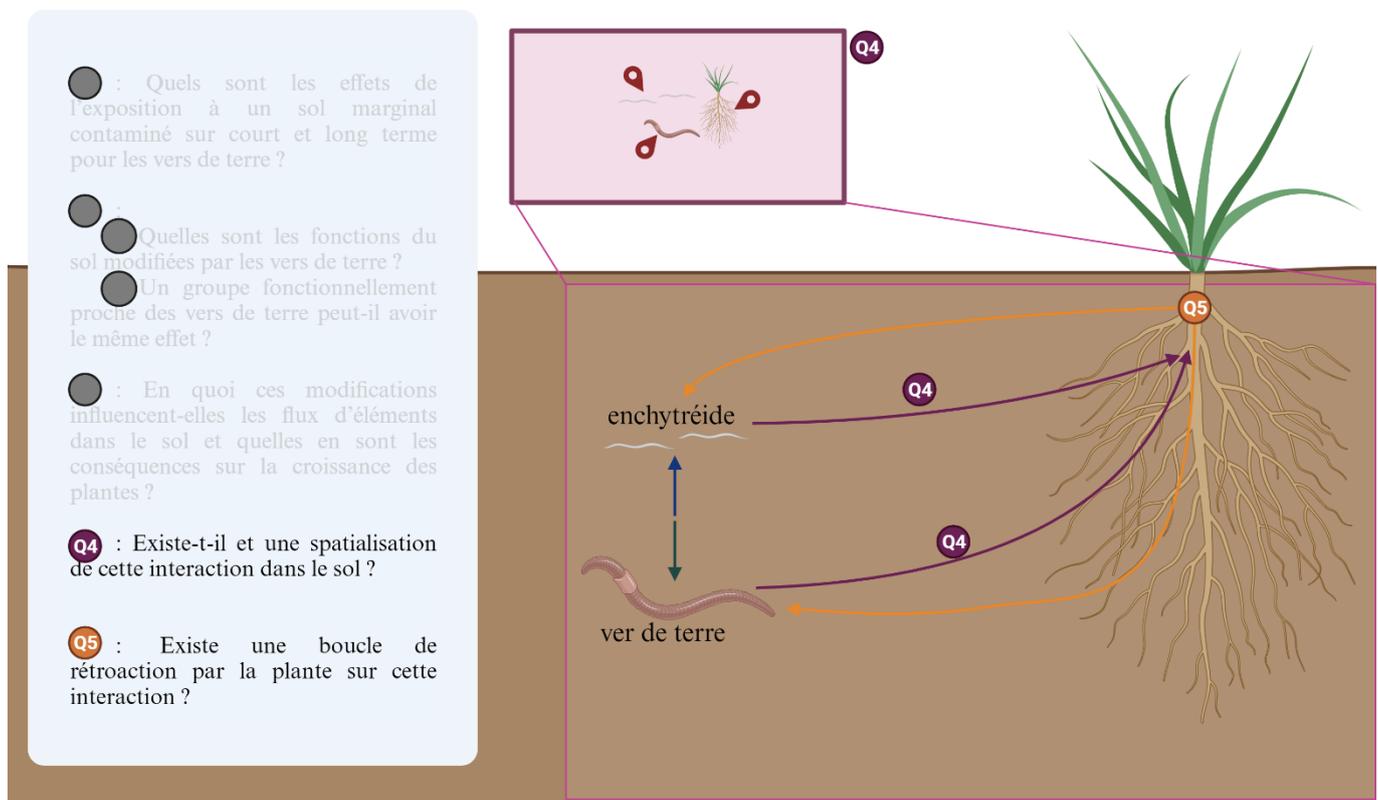


Figure 7.0 : Schéma conceptuel des questions du chapitre 7

Brièvement, l'expérience E consiste en une incubation de rhizotrons sur une période de deux mois, avec ou sans annélides (enchytréides et vers de terre), et avec ou sans plantes.

7.1 ÉVOLUTION DE LA BIOMASSE ET TAUX DE SURVIE DES ORGANISMES PENDANT L'EXPERIENCE

7.1.1 Résultats : Poids et taux de survie des annélides

Les données relatives aux organismes du sol sont compilées dans le Tableau 7.1.

Concernant les vers de terre, aucune différence significative n'a été observée entre les conditions de départ et de fin d'expérience en termes de biomasse (ANOVA : $p > 0.05$) et de taux de survie (ANOVA : $p > 0.05$). La biomasse totale des vers de terre initialement inoculée dans les rhizotrons était de 1 925.0 mg, 1 856.7 mg, 1 966.7 mg et 2 106.2 mg pour les conditions Ea, EaL, EaEn et EaEnL, respectivement, avec un poids moyen individuel de 385.0 mg, 371.3 mg, 393.3 mg et 421.2 mg. En fin d'expérience, le taux de survie moyen des vers de terre était de 90 % pour l'ensemble des conditions, avec des taux spécifiques de 92.0 %, 80.0 %, 92.0 % et 96.0 % pour Ea, EaL, EaEn et EaEnL, respectivement. Les biomasses recueillies étaient de 2 226.1 mg, 1 702.2 mg, 1 993.6 mg et 2 125.2 mg pour Ea, EaL, EaEn et EaEnL, respectivement.

Pour les enchytréides, la biomasse initiale inoculée était de 79.6 mg, 81.4 mg, 79.6 mg et 79.1 mg pour les conditions En, EnL, EaEn et EaEnL, respectivement, équivalant à une estimation de 306, 313, 306 et 304 enchytréides inoculés. À la fin de l'incubation, le nombre total moyen estimé d'enchytréides par condition était de 960 (En), 1 048 (EnL), 344 (EaEn) et 296 (EaEnL). Ces résultats indiquent une augmentation de 221 % et 250 % (Tukey's HSD : $p < 0.05$) pour les conditions En et EnL comparativement au nombre initial d'enchytréides. Toutefois, pour les conditions EaEn et EaEnL, le nombre d'enchytréides recensés est resté similaire à celui des individus initialement inoculés.

Chapitre 7 : Importance de la localisation des organismes pour l'interaction annélides - plante

Tableaux 7.1 : Biomasse et taux de survie des vers de terre et enchytréides pour chaque condition. Les différences significatives entre les valeurs ont été calculées séparément pour chaque organisme (vers de terre et enchytréides) et pour chaque paramètre (biomasse, nombre d'individus, taux de survie). Les différences sont indiquées par différentes lettres ($p < 0.05$). L'absence de différence significative est notée par l'abréviation *n.s.*. Les valeurs estimées sont marquées d'un astérisque *.

Organisme	Condition	Biomasse (mg)		Nombre d'individus		Taux de survie (%)
		initiale	finale	initial	final	
Vers de terre	Ea	1 925.0 ± 168.5 <i>n.s.</i>	2 226.1 ± 385.0 <i>n.s.</i>	5.0 ± 0.0 <i>n.s.</i>	4.6 ± 0.5 <i>n.s.</i>	92.0 ± 11.0 <i>n.s.</i>
	EaL	1 856.7 ± 168.8 <i>n.s.</i>	1 702.2 ± 372.8 <i>n.s.</i>	5.0 ± 0.0 <i>n.s.</i>	4.0 ± 0.7 <i>n.s.</i>	80.0 ± 14.1 <i>n.s.</i>
	EaEn	1 966.7 ± 145.4 <i>n.s.</i>	1 993.6 ± 286.4 <i>n.s.</i>	5.0 ± 0.0 <i>n.s.</i>	4.6 ± 0.5 <i>n.s.</i>	92.0 ± 11.0 <i>n.s.</i>
	EaEnL	2 106.2 ± 223.8 <i>n.s.</i>	2 125.2 ± 271.8 <i>n.s.</i>	5.0 ± 0.0 <i>n.s.</i>	4.8 ± 0.4 <i>n.s.</i>	96.0 ± 9.0 <i>n.s.</i>
Enchytréides	En	79.6 ± 2.1 <i>n.s.</i>	Non mesuré	306.2 ± 8.2 a*	960.0 ± 253.9 b*	314.6 ± 86.2 a
	EnL	81.4 ± 3.3 <i>n.s.</i>	Non mesuré	313.2 ± 12.8 a*	1 048.0 ± 278.7 b*	333.4 ± 80.0 a
	EaEn	79.6 ± 5.5 <i>n.s.</i>	Non mesuré	306.0 ± 21.2 a*	344.0 ± 181.3 a*	111.5 ± 58.5 b
	EaEnL	79.1 ± 3.1 <i>n.s.</i>	Non mesuré	304.2 ± 11.9 a*	296.0 ± 74.0 a*	97.8 ± 25.7 b

7.1.2 Discussion : La présence de vers de terre impact le développement des enchytréides

Il est bien connu que les organismes du sol peuvent être affectés par la contamination du sol (Nahmani et al., 2003 ; Morgan & Morgan, 1999 ; Bouché, 1984). Cependant, dans notre expérience, le taux de survie élevé (90 %) des vers de terre et le maintien de la population des enchytréides suggèrent que le sol étudié présente une faible toxicité à court terme. Un taux de survie plus élevé d'*A. caliginosa* (98 %) a été observé dans l'expérience A, une expérience *ex-situ* en cosme (chapitre 3). Il est probable que les vers de terre se développent mieux dans des conditions expérimentales en pots par rapport au système de rhizotron, où les organismes du sol sont contraints à un environnement restreint, notamment en raison d'une faible épaisseur de sol.

En ce qui concerne les enchytréides, cette étude n'a pas été conçue pour suivre précisément leur taux de survie. En effet, le temps de génération connu dans la littérature (40 jours) est inférieur à la durée d'incubation de notre expérimentation (56 jours), ce qui implique une mortalité naturelle potentielle et une reproduction possible dans les rhizotrons. Lors du comptage des enchytréides après coloration, des cocons éclos ont été observés, confirmant la présence d'au moins deux générations dans les rhizotrons. Bien que la population d'enchytréides se maintienne lorsqu'ils sont isolés, la présence de vers de terre réduit le nombre d'individus retrouvés dans le sol. Nos résultats sont en accord avec des expériences *ex-situ* (Räty, 2004) et *in-situ* (Topoliantz et al., 2000) utilisant des sols non contaminés, ainsi que les observations du chapitre 6. Ces études montrent une tendance similaire avec une diminution de la population d'enchytréides en présence de vers de terre. Dans une expérience en laboratoire, Räty (2004) a constaté qu'en présence de *Lumbricus terrestris* et d'*A. caliginosa*, la population indigène d'enchytréides (*Fridericia* spp., *Cognettia glandulosa*, *Cognettia sphagnetorum*, *Bryodrilus ehlersi*) a été réduite par un facteur de 5 mais est restée stable en l'absence de vers de terre après 60 semaines d'incubation. Une tendance similaire a été observée par Topoliantz et al. (2000) lors d'une comparaison de la population de vers de terre et d'enchytréides sous différents systèmes agricoles. La densité de vers de terre semble être le principal facteur influençant la population d'enchytréides plutôt que l'environnement du sol lui-même. Dans nos conditions, il apparaît clairement que les vers de terre et les enchytréides interagissent étroitement, alors que les plantes ont moins d'interactions, du moins à leur stade précoce de croissance.

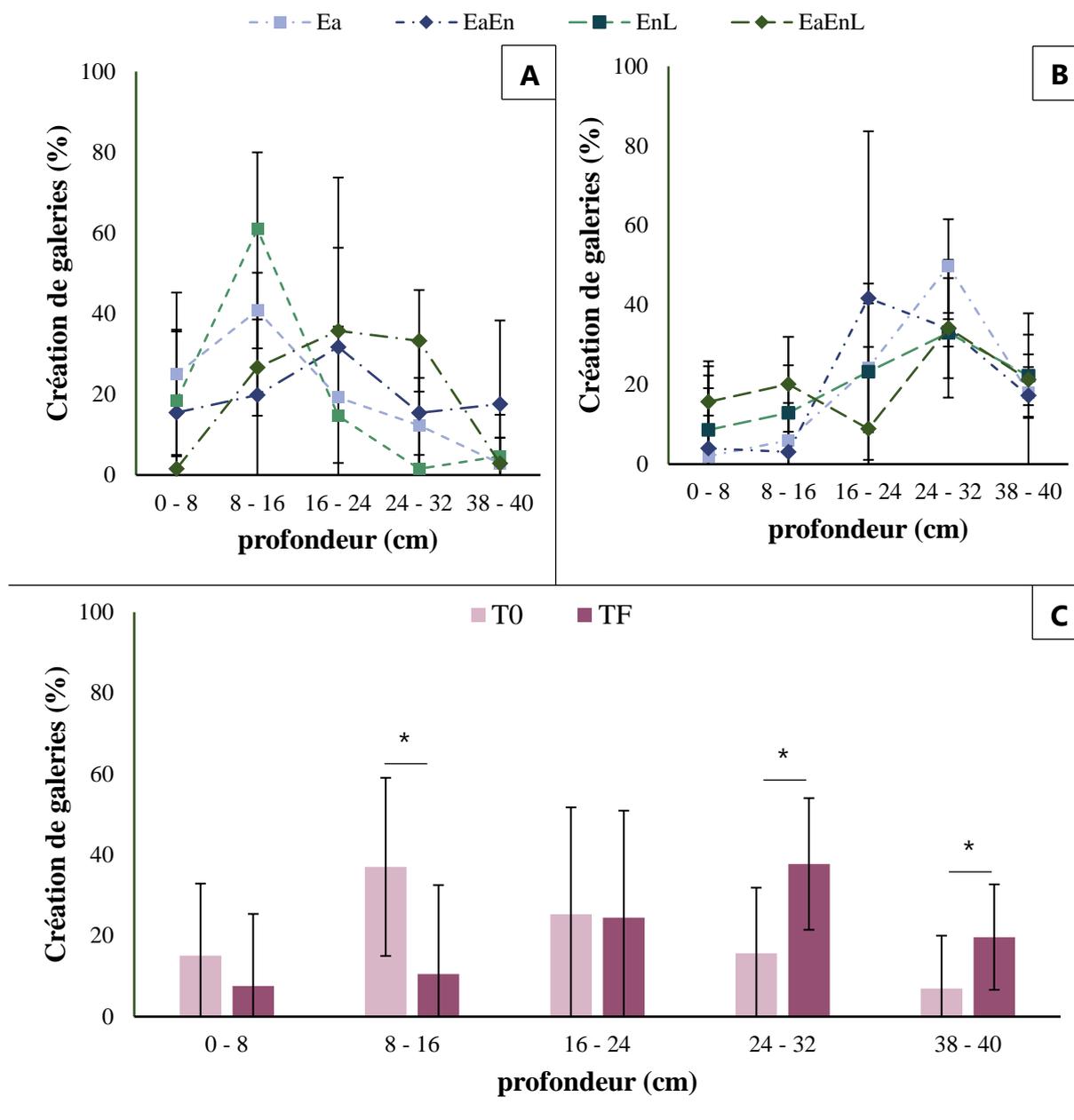


Figure 7.1 : Activité des vers de terre dans chaque couche de sol pour chaque condition : couche n°1 (0 - 8 cm), couche n°2 (8 - 16 cm), couche n°3 (16 - 24 cm), couche n°4 (24 - 32 cm), couche n°5 (32 - 40 cm) au début (A) et à la fin (B) de l'expérience. La partie C représente la combinaison des différentes conditions. Un astérisque (*) indique une différence significative entre les valeurs au sein d'une même couche ($p < 0.05$).

7.2 DISTRIBUTION DES ORGANISMES DANS LES COUCHES DE SOL TOUT AU LONG DE L'EXPERIENCE

7.2.1 Résultats : Activité des vers de terre dans les couches de sol tout au long de l'expérience

Les résultats liés aux activités des vers de terre sont présentés sur la Fig. 7.1A et B. Lors de la comparaison de l'activité des vers de terre dans chaque couche de sol et pour chaque condition, aucun schéma distinct n'a pu être identifié, principalement en raison de la forte variabilité entre les rhizotrons au sein de chaque condition. Cependant, lorsque toutes les conditions ont été combinées (Fig. 7.1C), une tendance générale a émergé, montrant un changement dans la répartition spatiale de l'activité des vers de terre à travers les différentes couches de sol au fil du temps. Au cours des deux premières semaines, la majorité des galeries a été trouvée dans les couches n°1 (0 - 8 cm) et n°2 (8 - 16 cm), tandis qu'un taux de création de galeries plus faible a été observé dans les couches n°3 (16 - 24 cm), n°4 (24 - 32 cm) et n°5 (32 - 40 cm) (Kruskal-Wallis : $p < 0.05$). À la fin de l'expérience (semaine 8), une diminution de l'activité des vers de terre a été observée dans la couche n°1 (0 - 8 cm) et la couche n°2 (8 - 16 cm) par rapport aux autres couches de sol (Kruskal-Wallis : $p < 0.05$).

7.2.2 Résultat : Distribution des enchytréides dans les couches de sol à la fin de l'expérimentation

La répartition relative des enchytréides dans les différentes couches de sol à la fin de l'expérience est présentée dans la Fig. 7.2.

En présence uniquement d'enchytréides (condition En), la répartition entre les différentes couches est uniforme. De même, en présence de plantes (condition EnL), une distribution uniforme est observée, et aucune différence significative n'a été observée entre les conditions En et EnL (Kruskal-Wallis : $p > 0.05$). Cependant, en présence de vers de terre (conditions EaEn et EaEnL), des changements dans la distribution des enchytréides le long de la profondeur du rhizotron ont été observés. Une localisation préférentielle des enchytréides dans les couches intermédiaires a été notée (Wilcoxon : $p < 0.05$), et une diminution dans la couche n°1 (0 - 8 cm) a été observée (Wilcoxon : $p < 0.05$). Dans la condition EaEn, avec des vers de terre mais sans plantes, une abondance significativement plus élevée dans les couches n°3 (16 - 24 cm) et n°4 (24

Chapitre 7 : Importance de la localisation des organismes pour l'interaction annélides -

plante

- 32 cm) a été observée en comparaison des autres couches (Wilcoxon : $p < 0.05$). En revanche, avec des vers de terre et des plantes (condition EaEnL), une abondance significativement plus élevée a été observée dans les couches n°2 (8 - 16 cm) et n°3 (16 - 24 cm) par rapport à l'abondance en enchytréides dans les autres couches (Wilcoxon : $p < 0.05$).

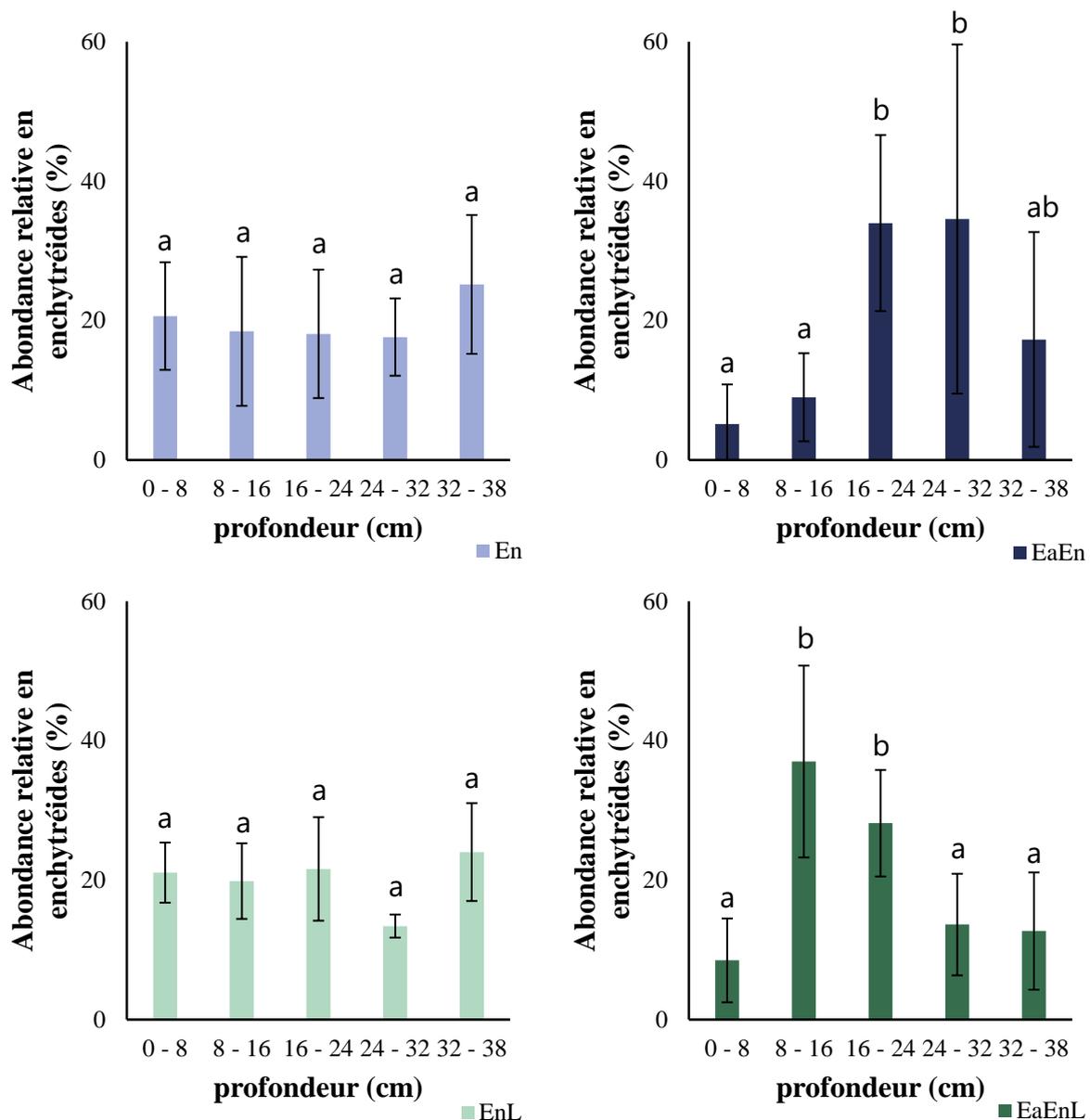


Figure 7.2 : Abondance relative des enchytréides (%) à la fin de l'expérience dans chaque couche de sol : couche n°1 (0 - 8 cm), couche n°2 (8 - 16 cm), couche n°3 (16 - 24 cm), couche n°4 (24 - 30 cm), couche n°5 (30 - 38 cm). Les lettres représentent les différences entre les couches dans la même condition (Wilcoxon : $p < 0.05$).

7.2.3 Résultat : Colonisation des couches de sol par les racines à la fin de l'expérience

Les résultats concernant la colonisation des couches de sol par les racines sont présentés dans la Fig. 7.3. Dans nos conditions expérimentales, qui comprenaient une période d'incubation de deux mois et sans optimisation de la lumière ou de la température, nous avons observé une croissance lente de *L. perenne*. Les résultats ont révélé que les racines étaient présentes exclusivement dans la couche supérieure du sol (0 - 8 cm) pour toutes les conditions incluant des plantes (L, EaL, EnL et EaEnL), et également dans la deuxième couche (8 - 16 cm) uniquement dans la condition EnL (Wilcoxon : $p < 0.05$). Aucune racine n'a été détectée au-delà d'une profondeur de 16 cm dans aucun des rhizotrons.

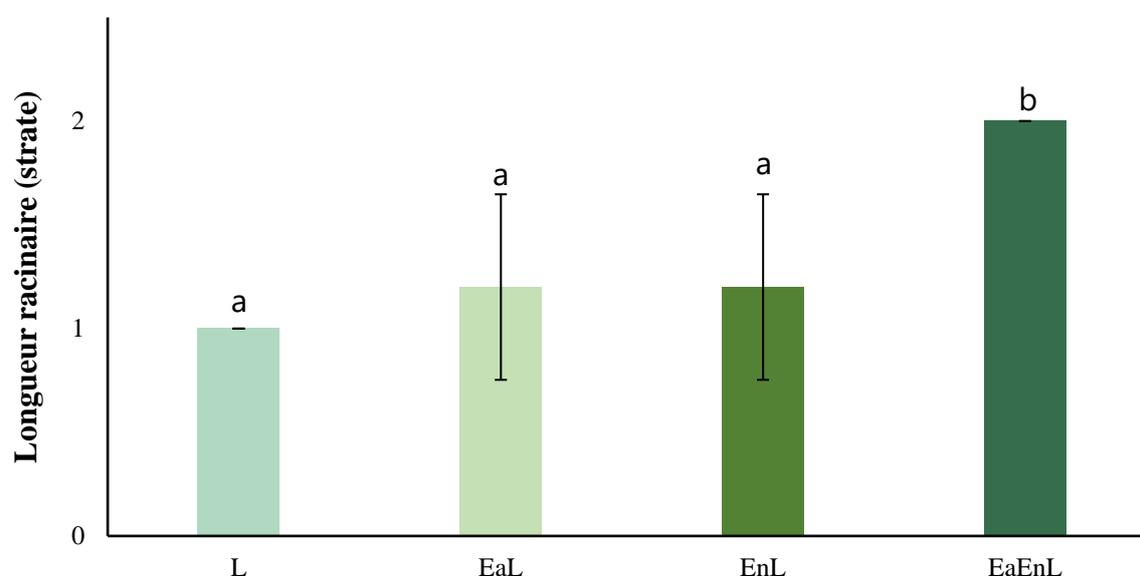


Figure 7.3 : Couche la plus profonde où les racines ont été trouvées ($n=5$). Les différences significatives entre les valeurs sont indiquées par des lettres différentes (Wilcoxon : $p < 0.05$).

7.2.4 Discussion : Colonisation du sol par les organismes

Dans cette étude, nous avons observé que les vers de terre migrent en profondeur dans le sol, atteignant les trois couches les plus profondes du rhizotron tout au long de l'expérience et colonisant le sol jusqu'à une profondeur de moins de 16 cm. *A. caliginosa*, en tant qu'espèce endogée, vit dans la fraction minérale du sol (Bouché, 1977). Les couches de sol plus profondes

Chapitre 7 : Importance de la localisation des organismes pour l'interaction annélides - plante

offrent également des conditions environnementales plus stables (température, humidité) que la couche supérieure (Didden, 1991). Étant donné que le sol a été homogénéisé dans le rhizotron et compte tenu de la faible épaisseur du sol, la composition et la température du sol étaient constantes avec la profondeur. Au-delà de ces facteurs environnementaux, l'écotype des vers de terre, c'est-à-dire l'appartenance d'*A. caliginosa* au groupe des vers endogés, pourrait expliquer la distribution des vers dans le rhizotron, ce qui reproduit les observations sur le terrain (Morgan & Morgan, 1999 ; Pitkänen et Nuutinen, 1997). Il a été montré qu'*A. caliginosa* forme la majorité de ses galeries entre 15 et 40 cm le long d'un profil de sol (Pitkänen et Nuutinen, 1997).

De plus, la présence d'enchytréides et de plantes n'a pas eu d'impact sur la distribution des vers de terre. Ce résultat est conforme à l'idée que les vers, en tant qu'organismes clés (Blouin et al., 2013) de l'écosystème du sol, ne sont pas affectés par la présence d'autres annélides plus petits, tels que les enchytréides.

Une répartition homogène des enchytréides a été observée en l'absence de vers de terre ainsi que lors de la présence de plantes (conditions En et EnL). Les conditions environnementales initiales étant identiques pour toutes les conditions, les différences observées dans la distribution des enchytréides sous les conditions EaEn et EaEnL suggèrent que, contrairement aux vers de terre, la localisation des enchytréides dans le profil du sol est influencée par la présence d'autres annélides. En effet, en présence de vers de terre, on observe une migration des enchytréides vers des couches plus profondes, là où se trouvent les vers de terre. Ce résultat concorde avec certaines études sur les interactions entre les vers de terre et les enchytréides (Räty, 2004). La littérature montre clairement que l'impact des vers de terre sur l'abondance et la distribution d'autres espèces du sol est bien documenté (Parkinson et al., 2004 ; Räty & Huhta, 2003 ; Maraun & Scheu, 2000 ; Huhta & Viberg, 1999), avec une réduction globale de la faune du sol suite à l'introduction des vers de terre.

Selon la littérature, les enchytréides sont décrits comme vivant dans les couches supérieures du sol en conditions de champ, restant généralement dans les dix premiers centimètres (Topoliantz et al., 2000). La répartition verticale dans les sols est principalement déterminée par

deux facteurs (Didden, 1991) : 1/ la localisation de la matière organique dans le profil du sol, et 2/ les conditions micro-environnementales du sol. Ainsi, les enchytréides se trouvent principalement là où la matière organique est la plus accessible, indépendamment de son origine (sol ou contributions d'autres organismes) (Pelosi & Römbke, 2016). D'autres conditions environnementales, telles que la macroporosité créée par les galeries d'autres espèces, peuvent encourager la migration vers des couches de sol plus profondes. En outre, les galeries créées par les vers de terre facilitent le déplacement des enchytréides vers des couches plus profondes (Pelosi & Römbke, 2016). Dans notre étude, les résultats sont cohérents avec ces constatations, et nous supposons que la distribution des enchytréides était principalement liée à la qualité et à la disponibilité de la matière organique dans les différentes couches de sol, qui étaient favorisées par la macroporosité du sol sableux utilisé ou par les activités des vers de terre. Généralement, les plantes pérennes, comme *L. perenne*, peuvent augmenter la matière organique du sol par la formation de litière et l'exsudation de composés organiques par les racines (Blouin et al., 2013 ; Brown et al., 2004). La rhizosphère est également largement colonisée par les micro-organismes, qui sont la principale source de nourriture pour les enchytréides dans les sols cultivés (Didden, 1991). Dans cette expérience, la durée d'incubation était trop courte pour permettre la formation d'une litière en surface, mais l'exsudation racinaire de composés organiques et la colonisation microbienne de la rhizosphère pourraient expliquer la corrélation entre la localisation des enchytréides et la présence de racines de plantes dans les mêmes couches du rhizotron.

7.3 IMPACT DES ORGANISMES SUR LES PROPRIETES DU SOL ET LA CROISSANCE DES PLANTES

7.3.1 Résultat : Évolution du pH et de la conductivité du sol dans différentes strates entre le début et la fin de l'expérimentation

Les valeurs de pH et de conductivité du sol mesurées dans chaque couche de sol à la fin de l'expérimentation sont présentées dans la Fig. 7.4.

Une baisse globale du pH du sol (Kruskal-Wallis : $p < 0.05$) a été observée dans toutes les conditions entre le début et la fin de l'expérimentation, avec une diminution allant de 0,2 à 0,5 unité de pH. Une augmentation globale de la conductivité du sol a été observée dans toutes les

plante

conditions et dans toutes les couches de sol entre le début et la fin de l'expérimentation (Kruskal-Wallis : $p < 0.05$).

En ce qui concerne le pH du sol, aucune différence significative n'a été notée entre les conditions dans les couches n°1 (0 - 8 cm), n°4 (24 - 32 cm) et n°5 (32 - 38 cm). Une baisse significative du pH de 0,2 unité (Kruskal-Wallis : $p < 0,05$) a été mesurée dans la condition EaEnL par rapport à la condition S dans les couches n°2 (8 - 16 cm) et n°3 (16 - 24 cm).

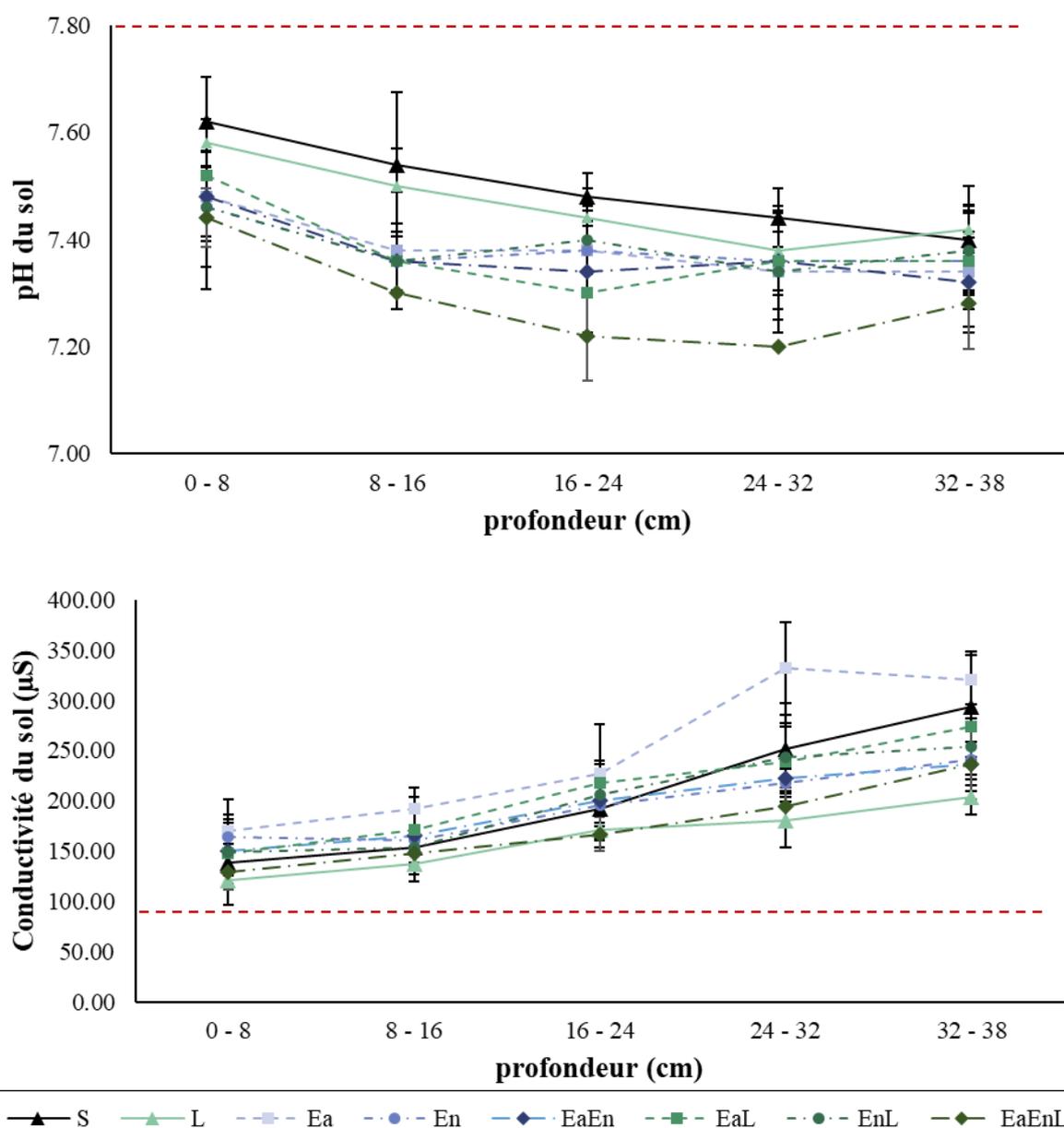


Figure 7.4 : Valeurs du pH et de la conductivité (μS) dans chaque couche de sol : couche n°1 (0 - 8 cm), couche n°2 (8 - 16 cm), couche n°3 (16 - 24 cm), couche n°4 (24 - 30 cm), couche n°5 (30 - 38 cm). Les lignes rouges correspondent aux valeurs initiales du pH et de la conductivité.

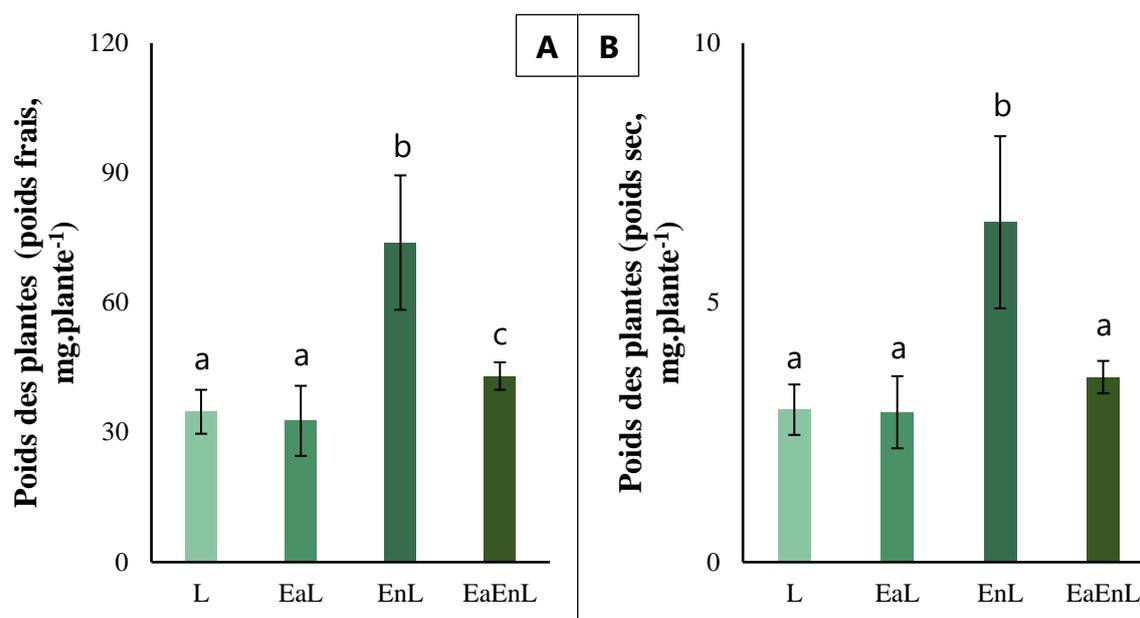


Figure 7.5 : Poids frais (A) et poids sec (B) standardisés de *L. perenne* (n=5). Les différences significatives entre les valeurs sont indiquées par des lettres différentes pour chaque mesure (Wilcoxon : $p < 0.05$).

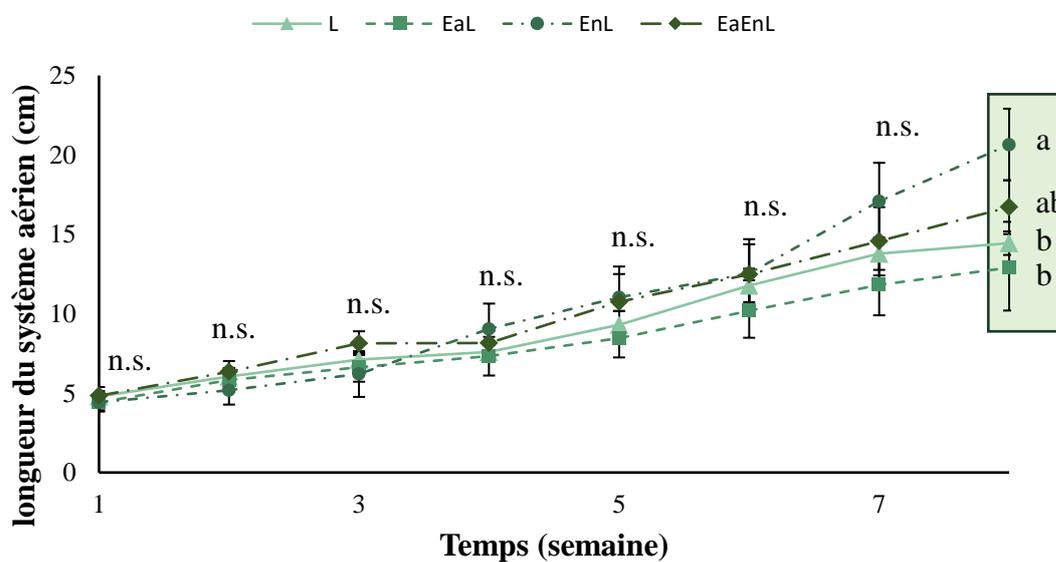


Figure 7.6 : Évolution au fil du temps de la hauteur des pousses (n=5). Les différences significatives entre les valeurs sont indiquées par des lettres différentes chaque semaine (Wilcoxon : $p < 0.05$). L'absence de différences est indiquée par l'acronyme n.s..

Chapitre 7 : Importance de la localisation des organismes pour l'interaction annélides - plante

Pour la conductivité du sol, aucune différence significative n'a été détectée entre les conditions pour chaque couche de sol, à l'exception d'une baisse de 31 % entre les conditions S et L dans la couche n°5 (32 - 38 cm). Un gradient de conductivité est observé à travers les différentes couches de sol, avec une augmentation de la conductivité dans les couches les plus profondes par rapport aux couches supérieures (Kruskal-Wallis : $p < 0.05$).

7.3.2 Paramètres physiologiques des plantes

Les résultats sont présentés dans la Figure 7.5. La présence de vers de terre (condition Ea) n'a pas entraîné de modification significative du poids des plantes par rapport aux plantes cultivées seules (condition L, Fig. 7.5.A). Cependant, la présence d'enchytréides a induit une augmentation de 112 % du poids frais des plantes pour la condition EnL (Wilcoxon : $p < 0.05$) et de 24 % pour la condition EaEnL (Wilcoxon : $p < 0.05$). Une augmentation de 123 % du poids sec des plantes a été observée uniquement dans la condition EnL (Wilcoxon : $p < 0.05$), tandis qu'aucune différence significative n'a été constatée entre les conditions L, EaL et EaEnL.

7.3.3 Lien entre la présence d'annélides dans les couches racinaires et la croissance des plantes

Le lien entre le poids des plantes, les caractéristiques physico-chimiques du sol et l'abondance des organismes a été établi (Éq. 7.1). Le poids des plantes est ainsi associé à la présence des enchytréides dans la zone racinaire et à une diminution du pH du sol. Une augmentation du nombre d'enchytréides induit une augmentation du poids des plantes avec un facteur de 0.10 ($p < 0.01$). De plus, une diminution de la teneur extractible en phosphore, déterminée par extraction DGT, est positivement liée à une augmentation de la biomasse aérienne des plantes avec un facteur de 2.60 ($p < 0.001$). En revanche, il existe une relation négative entre la biomasse aérienne des plantes et la teneur extractible en Cd par DGT avec un facteur de -294 ($p < 0.01$).

$$Poids_{plante} = 0.10 \times Nombre_{Enchytréide} - 11.51 \times pH + 86.72$$

Equation 7.1 : Régression linéaire du poids des plantes en fonction des différents paramètres physico-chimiques du sol ainsi que de l'abondance des annélides dans les strates racinaires. Seules les valeurs significatives ($p < 0.05$) sont conservées dans l'équation. $R^2 = 0.94$.

7.3.4 Discussion : Relation entre la localisation des annélides et la croissance des plantes.

Le développement des plantes, leur colonisation racinaire et leur biomasse étaient plutôt faibles comparativement à d'autres études utilisant *L. perenne* sur un sol contaminé (chapitres 3 à 6 ; Dandan et al., 2007). L'expérience E s'est déroulée dans des conditions naturelles, dans une salle expérimentale sans contrôle optimisé de la température ou des cycles lumineux. Les températures ponctuellement basses enregistrées à certaines périodes de l'expérience auraient pu contraindre la croissance de *L. perenne* (Luxmoore et Millington, 1971 ; Peacock, 1975 ; Thomas et Norris, 1981). Cependant, malgré ces conditions de croissance limitantes, une augmentation de la biomasse des plantes, de la taille des pousses et de la colonisation racinaire a été constatée uniquement dans la condition EnL. Ce résultat concorde avec un effet biofertilisant suite à l'inoculation des enchytréides, comme celui observé dans le chapitre 6. Certaines études ont rapporté le rôle des enchytréides dans le fonctionnement du sol et le cycle des nutriments (Laakso et Setälä, 1999 ; Abrahamsen, 1990), ce qui pourrait accroître la disponibilité des nutriments pour les plantes et augmenter la biomasse végétale. Cette étude a démontré que les enchytréides seuls sont capables d'améliorer la biomasse des plantes et pourraient être impliqués dans un processus de biofertilisation, même en absence de vers de terre. Ainsi, les enchytréides pourraient remplir des fonctions similaires à celles des vers de terre pour la biofertilisation, au moins aux premiers stades de la croissance des plantes, tandis que les interactions entre les enchytréides et les vers de terre ne semblent pas bénéfiques pour les plantes.

Dans nos conditions expérimentales, nos résultats ont également mis en évidence qu'une augmentation significative de la biomasse des plantes (partie aérienne et racines) est constatée uniquement lorsque les organismes sont présents dans la zone racinaire (couche n°1 : 0 - 8 cm). Il s'agit, à notre connaissance, de la première mise en évidence de la nécessité d'une interaction étroite entre la faune du sol et les racines dans le processus de biofertilisation.

7.4 CONCLUSION PARTIELLE

En utilisant un dispositif de rhizotron pour étudier l'effet de l'inoculation de deux espèces d'annélides en présence ou absence de plantes en croissance, notre étude a révélé que l'inoculation d'*E. albidus* favorise l'acclimatation des plantes dans un sol sableux contaminé, se

Chapitre 7 : Importance de la localisation des organismes pour l'interaction annélides - plante

traduisant par une augmentation de la croissance des plantes. Par contre, l'inoculation d'*A. caliginosa* seul n'a pas modifié la croissance des plantes.

La présence de vers de terre, lorsqu'ils sont inoculés conjointement avec des enchytréides, a provoqué une migration des enchytréides vers les couches de sol les plus profondes du rhizotron. Le déplacement des enchytréides hors de la zone racinaire a réduit l'effet bénéfique de ces derniers sur les plantes. Nos résultats confirment l'importance d'une proximité spatiale entre les annélides et les racines pour améliorer la production primaire, et démontrent que même dans les sols contaminés, les interactions biologiques souterraines sont cruciales pour le fonctionnement du sol en surface. La compréhension approfondie des interactions souterraines est essentielle pour stimuler efficacement la production primaire par l'inoculation d'organismes du sol *in-situ*.

8. CHAPITRE 8 : DISCUSSION GENERALE

8.1 EXPOSITION DE LA PLANTE A UN SOL CONTAMINE

Les plantes sont exposées aux ET via leur système racinaire (Fig. 8.1) qui extrait les éléments de la solution du sol (Abedi & Mojiri, 2017 ; Elless et al., 2000). La fraction disponible est régulée par des paramètres physico-chimiques du sol, tels que le pH et la teneur en matière organique (Cao et al., 2014 ; Ye et al. ; 2014 ; Adams et al., 2004), limitant ainsi l'accessibilité des ET aux plantes. Ces éléments diffusent ensuite dans la plante par la voie apoplasmique ou symplasmique, s'étendant au système racinaire et aux parties aériennes (Lux et al., 2011).

Les travaux ici présentés révèlent une accumulation marquée des ET dans les racines et une hausse des concentrations de Zn et Cd dans la partie aérienne (Chapitre 3). L'accumulation racinaire des ET peut être associée à un pH élevé du sol, favorisant la précipitation de ces éléments, comme observé par d'autres études (Ahumada et al., 2009 ; Cutillas-Berreiro et al., 2017). Il a été suggéré que l'un des mécanismes de la mobilité réduite des ET dans le ray-grass est leur accumulation dans l'apoplaste des tissus racinaires (Marastoni et al., 2019). L'alcalinisation de la rhizosphère peut augmenter le nombre de sites de liaison négatifs dans l'apoplaste racinaire, favorisant l'adsorption des ET sur les parois cellulaires des racines. Cela suggère que le ray-grass peut restreindre la translocation des ET et les immobiliser dans le compartiment racinaire.

Malgré cela, une translocation vers le système aérien est notée, avec des concentrations excédant parfois les niveaux de fond naturels pour les plantes (Chaney, 2011 ; Harada & Hatanaka, 1998). Cependant, ces concentrations restent inférieures ou proches des seuils de phytotoxicité (Chaney, 1989), et nos résultats corroborent ces données. Aucune toxicité aiguë, telle que sénescence, chlorose ou mortalité, n'a été détectée chez les plantes.

Néanmoins, dans des conditions expérimentales contrôlées avec des témoins non contaminés (Chapitres 3 et 4), une diminution du poids de la partie aérienne a été observée, indiquant des effets de la contamination sur la croissance des plantes. Des études de régression (Chapitres 3, 5 et 6) indiquent une influence prédominante du Cd sur la croissance, tandis que Zn et Cu semblent

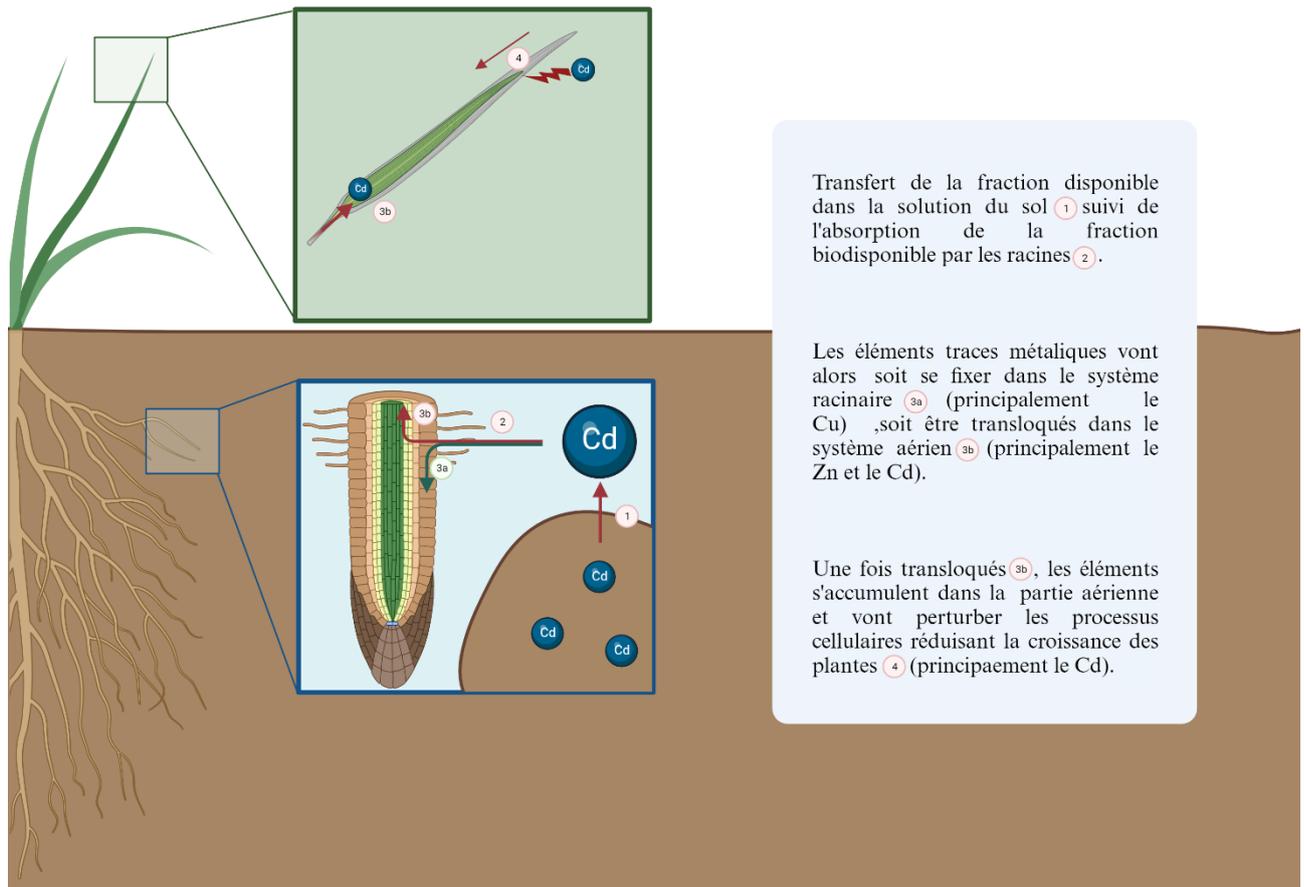


Figure 8.1 : Représentation schématique des flux des ET et de leur impact sur les plantes.

moins impliqués. Le Cd, un ET non essentiel, peut induire des effets toxiques même à faible concentration (Chaney, 2010 ; Shukla et al., 2002). Il perturbe l'absorption d'autres cations tels que Zn, Ca et Fe, entraînant une réduction de l'activité photosynthétique et l'apparition de chlorose due à une carence en Fe (Abedi & Mojiri, 2020). Le Cd peut également altérer les activités enzymatiques, soit en interagissant directement (Rizwan et al., 2017) ou par production d'espèces réactives de l'oxygène (e.g. O_2^- , H_2O_2) qui s'attaqueront aux complexes enzymatiques (Abbas et al., 2017), aboutissant à une baisse de la croissance végétale (Zhao et al., 2021 ; Abedi & Mojiri, 2020).

En absence de plantes, les annélides augmentent les flux d'éléments via des mécanismes différents pour les deux groupes étudiés.

8.2 EN ABSENCE DE PLANTES, LES ANNELIDES AUGMENTENT LES FLUX D'ÉLEMENTS VIA DES MÉCANISMES DIFFÉRENTS POUR LES DEUX GROUPES ÉTUDIÉS.

Les deux groupes étudiés, les vers de terre (Fig 8.2) et les enchytréides (Fig 8.3), influencent les flux de nutriments et de contaminants. Cependant, les flux et les mécanismes sous-jacents diffèrent entre les deux groupes.

8.2.1 Augmentation des flux de contaminants par les vers de terre

Les vers de terre sont capables, par leurs activités, d'augmenter les flux de contaminants, principalement en lien avec la modification des propriétés physico-chimiques du sol.

Dans les conditions étudiées, une acidification systématique du sol et de l'eau interstitielle a été constatée lors de diverses expérimentations. Cet effet d'acidification semble dépendre du type de sol et de l'espèce de ver de terre en question (Sizmur & Hodson, 2009). Une corrélation significative entre la diminution du pH et l'accroissement de la biodisponibilité du Zn et du Cd a été établie, un phénomène déjà documenté dans la littérature (Sauvé et al., 2000). Une baisse du pH augmente la solubilisation des ET, notamment le Zn et le Cd (Strobel et al., 2005), suggérant que le pH est un facteur déterminant dans l'augmentation des flux de ces contaminants par l'activité des vers de terre. Cependant, il a été rapporté que l'augmentation des flux d'ET peut survenir sans baisse du pH (Sizmur & Hodson, 2009 ; Udovic & Lestan, 2007 ; Ma et al., 2003), indiquant l'existence d'au moins un autre mécanisme, bien que minoritaire dans le cas présent. À l'inverse, les flux de Cu ne sont pas affectés par le pH.

Les flux de Cu sont plutôt régulés par la concentration en carbone organique dissous dans l'eau interstitielle du sol. L'activité des vers de terre augmente la concentration de carbone organique dissous, via la production de mucus riche en composés organiques solubles (Brown et al., 2004) et par la bioturbation de la matière organique du sol (Bailey et al., 2019). Le relargage de composés organiques dans la solution du sol favorise la mobilisation du Cu par la formation de complexes organo-métalliques (Sizmur & Hodson, 2009), une interaction bien étudiée dans la littérature (Brunetto et al., 2018 ; McBride et al., 2005 ; Sauvé et al., 1997).

Dans nos conditions expérimentales, l'impact des vers de terre sur les propriétés du sol est lié à leur biomasse (Chapitre 4). Jusqu'à une biomasse critique, un effet maximal est observé. En dessous de cette masse critique, la relation entre la biomasse de ver de terre et les modifications physico-chimiques du sol est positive, potentiellement en raison de la quantité de sol ingérée (Zhang et al., 2009). Cependant, au-delà de la masse critique, l'influence des vers de terre semble atteindre un plateau, indiquant un équilibre modifié du système (Chapitre 4). Ces changements des propriétés du sol sont durables dans le temps, même après la disparition des vers (Chapitre 5), avec une tendance à la baisse pour certains indicateurs.

L'augmentation des flux de contaminants pourrait poser un risque environnemental, car elle entraîne une hausse des concentrations dans l'eau interstitielle, avec un risque de mobilité des contaminants (Chaney et al., 2010 ; Hough, 2010). De plus, l'accroissement de la fraction extractible par DGT indique une augmentation de la biodisponibilité des contaminants pour les plantes (Ciadamidaro et al., 2017 ; Tandy et al., 2011 ; Degryse et al., 2009). Cette influence des vers de terre sur les contaminants a été préalablement documentée (Sizmur & Richardson, 2020).

8.2.2 Augmentation des flux nutritifs par les vers de terre

Les vers de terre augmentent les flux d'azote et de phosphore dans le sol. Contrairement aux contaminants, cette augmentation n'est pas principalement due à des changements des propriétés physico-chimiques du sol (Chapitre 3).

Les mécanismes précis sous-tendant ces flux ne sont pas élucidés par nos expériences. Cependant, la littérature propose deux mécanismes principaux. Le premier concerne une hausse de la minéralisation de la matière organique due à l'activité hétérotrophe des vers qui ingèrent la matière organique et excrètent des nutriments minéralisés, tels que l'ammonium, ainsi que des fragments organiques accessibles aux microorganismes (Blouin et al., 2013 ; Bailey et al., 2019 ; Seeber et al., 2008). Le second mécanisme implique une stimulation de l'activité enzymatique, catalysant la minéralisation et stimulant les communautés bactériennes liées au cycle de l'azote et du phosphore (Vos et al., 2022 ; Postma-Blauw et al., 2006 ; Suarez et al., 2004 ; Parkin & Berry, 1999). Un troisième mécanisme, moins applicable aux sols sableux, concerne l'amélioration

En absence de plantes, les annélides augmentent les flux d'éléments via des mécanismes différents pour les deux groupes étudiés.

de la structuration et de l'aération du sol par les vers, favorisant les bactéries nitrifiantes autotrophes (Blouin et al., 2013).

Ces effets sur l'accessibilité de la matière organique et la stimulation des communautés microbiennes sont durables et persistent après la disparition des vers de terre (Chapitre 5). La fouille par les vers de terre, via la production de turricules et de galeries, est corrélée à leur biomasse (Zhang et al., 2009), rendant l'augmentation des flux de nutriments dépendante de la biomasse jusqu'à une masse critique (Chapitre 4). Les limites de cette capacité d'augmentation restent à déterminer.

Cependant, l'effet stimulant sur les flux est transitoire en l'absence de renouvellement du pool de matière organique (Blouin et al., 2013). La durée de cette stimulation sans apport supplémentaire de matière organique varie selon les propriétés initiales du sol.

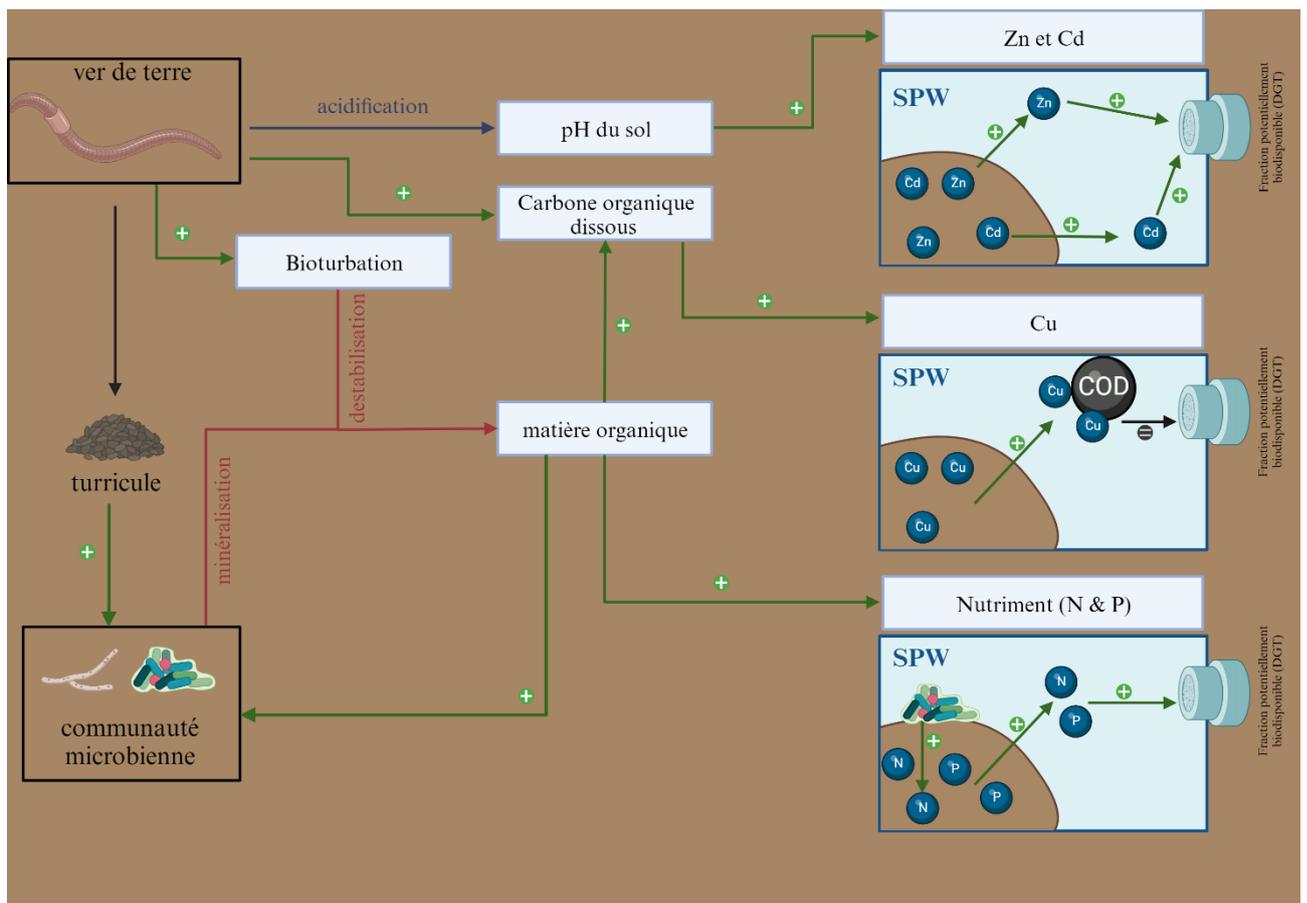


Figure 8.2 : Schéma conceptuel des flux induits par les vers de terre en absence de plantes

8.2.3 Augmentation des flux d'élément par les enchytréides

Dans le chapitre 6, il est démontré que les enchytréides peuvent induire à la fois des flux de contaminants et d'éléments nutritifs dans le sol.

Cependant, l'influence des enchytréides sur les flux de contaminants est peu documentée dans la littérature. L'absence d'effet observable des enchytréides sur les propriétés physico-chimiques du sol, telles que le pH ou la teneur en carbone organique dissous, ne permet pas de tirer des conclusions définitives sur les mécanismes responsables de ces flux. Néanmoins, les enchytréides sont reconnus pour leur régime microbivore (Pelosi & Römbke, 2016) et leur capacité à influencer la composition des communautés microbiennes du sol (Salminen et al., 2009 ; Cole et al., 2002). Ces communautés microbiennes jouent un rôle crucial dans la mobilisation des ET, avec une contribution notable des champignons (Antoniadis et al., 2017). Les modifications induites par les enchytréides dans ces communautés pourraient donc affecter les flux de contaminants, comme l'ont suggéré certaines études (De Maria et al., 2011 ; Zimmer et al., 2009). Les communautés microbiennes sont aussi capables de séquestrer d'importantes quantités d'ET dans les cellules des organismes morts ou vivants (Adriano et al., 2004 ; Ahalya et al., 2003). La prédation de ces microorganismes par les enchytréides pourrait alors libérer les ET séquestrés, favorisant leur mobilisation (Bolan et al., 2013).

L'impact des enchytréides sur les flux nutritifs est également peu étudié. Ils sont néanmoins essentiels au recyclage des nutriments (Pelosi & Römbke, 2016), bien que leur rôle dans les sols sableux semble limité (Mulder et al., 2011). En l'absence de vers de terre, les enchytréides peuvent devenir prépondérants dans le processus de recyclage des nutriments (Degtyarev et al., 2019). Ils participent à la décomposition des résidus végétaux frais et des fractions organiques plus résistantes à la dégradation (Pelosi & Römbke, 2016 ; Hendrix et al., 1986), augmentant ainsi l'accessibilité de ces substrats aux communautés microbiennes (Sandor & Schrader, 2011). Les enchytréides agissent comme des agents de décomposition primaire en traitant les résidus frais et secondaire ou tertiaire en s'attaquant aux matières organiques plus complexes. Cette activité de dégradation libère des nutriments minéraux, entraînant une augmentation de la minéralisation

de l'azote, tandis que la minéralisation du phosphore n'est pas observée (Plum & Filser, 2008 ; van Vlet et al., 2004).

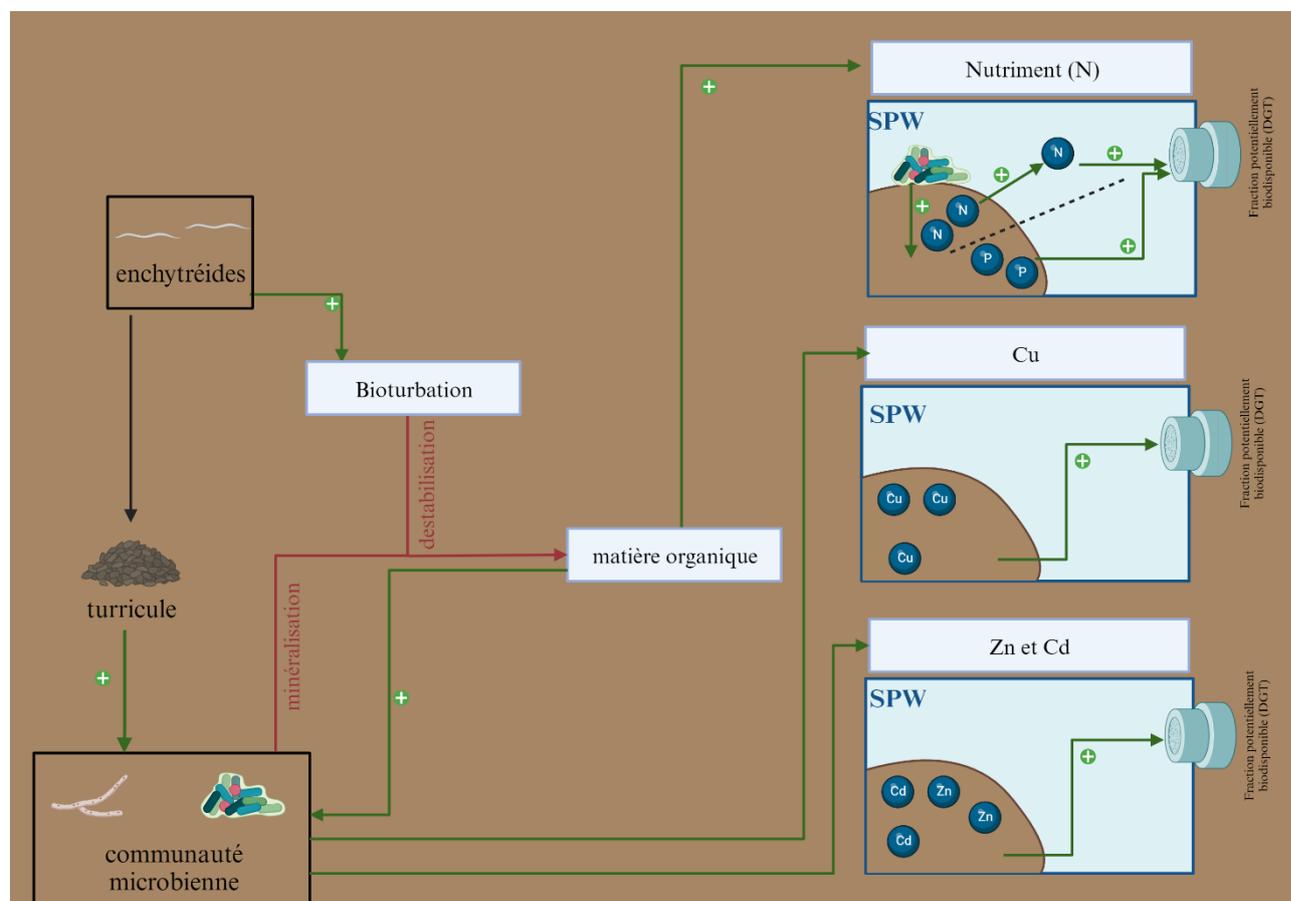


Figure 8.3 : Schéma conceptuel des flux induits par les enchytréides en absence de plantes

8.3 RÔLE RÉGULATEUR DES PLANTES SUR LES FLUX D'ÉLÉMENTS

Les plantes sont souvent considérées comme des récepteurs passifs dans l'interaction entre annélides et végétaux (Sizmur & Richardson, 2020). Cependant, les résultats de cette étude révèlent leur rôle significatif dans la régulation des flux (Fig 8.4).

Dans toutes les expériences menées (28 jours pour l'expérience C, 8 semaines pour les expériences A, B, D), les plantes ont colonisé l'intégralité des pots, transformant le sol en un milieu rhizosphérique. La rhizosphère, marquée par l'influence des plantes, dissimule l'impact des annélides sur le sol et l'eau interstitielle. Cette influence se manifeste par une élévation du pH et une réduction de la teneur en carbone organique dissous ainsi que de la conductivité.

L'activité rhizosphérique altère le pH du sol par l'excrétion d'ions H^+ , HCO_3^- et d'acides organiques, facilitant l'absorption des nutriments et régulant le pH intracellulaire (Lombi et al., 2000 ; Bravin et al., 2008). Un pH élevé tend à immobiliser les ET par précipitation ou complexation (Sauvé et al., 2000), atténuant ainsi les risques associés à l'augmentation des flux de Zn et Cd par les vers de terre.

La rhizosphère est également un écosystème riche en microorganismes qui accélère la minéralisation des composés organiques solubles, diminuant le carbone organique dissous (Girard et Walter, 2005 ; Bailey et al., 2019). Cette réduction favorise la formation de complexes organo-métalliques avec la matrice solide, immobilisant le Cu (Brunetto et al., 2018 ; McBride et al., 2005 ; Sauvé et al., 1997).

Cependant, malgré la stabilité ou la diminution des teneurs en ET dans les parties aériennes des plantes en présence d'annélides, leur minéralomasse augmente. Cela suggère que l'absorption accrue des ET est masquée par un accroissement de la biomasse végétale (Aerts & Chapin, 1999). Ces flux ne sont pas expliqués par le pH ou le carbone organique dissous mais pourrait être influencé principalement par les communautés microbiennes (voir 8.2.3).

Par ailleurs, une baisse significative des teneurs en nutriments dans l'eau interstitielle a été constatée, en corrélation avec l'augmentation des minéralomasses en azote et en phosphore ainsi que des teneurs partielles de ces nutriments dans la biomasse aérienne. Ces observations indiquent une persistance des flux nutritifs vers les plantes.

L'augmentation des flux nutritifs, moyennant une croissance de la biomasse aérienne de 30 % en moyenne en présence d'annélides, résulte de l'action bénéfique des vers de terre sur la croissance des plantes. L'accroissement de la disponibilité en azote et en phosphore, éléments cruciaux pour la croissance végétale (Elser et al., 2007), est un mécanisme clé d'amélioration de la biomasse. La durabilité de ces flux suggère que les microhabitats créés par les vers de terre et les enchytréides demeurent dans le sol. Une étude plus approfondie du sol, différenciant le sol proximal de l'interface racinaire, le sol drilosphérique, les turricules et le sol non structuré, serait nécessaire pour confirmer cette hypothèse.

Est-ce que l'interaction entre annélides et plantes est une coïncidence dépendante des interactions souterraines ("belowground")?

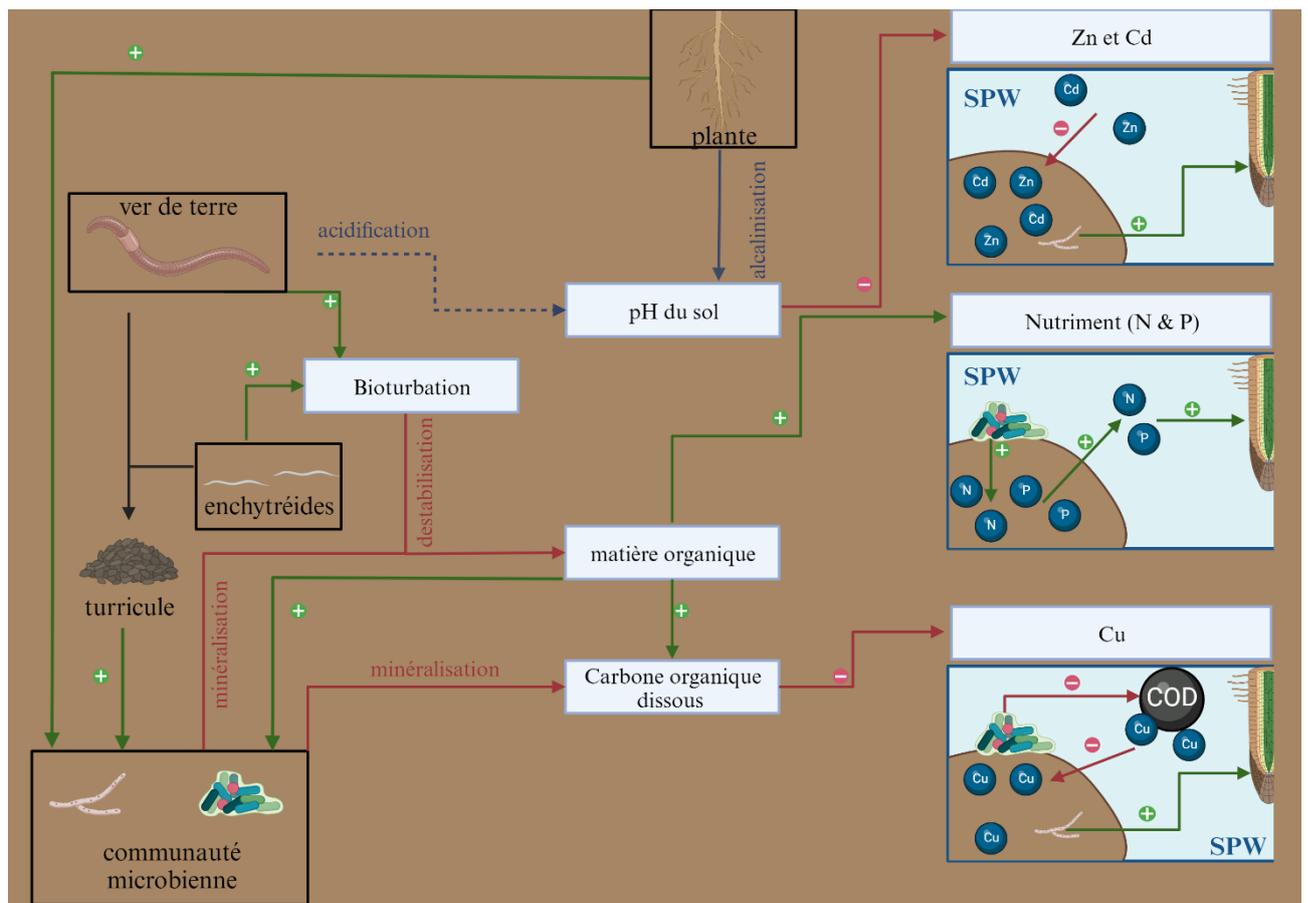


Figure 8.4 : Schéma conceptuel de la régulation des flux d'éléments par les plantes

8.4 EST-CE QUE L'INTERACTION ENTRE ANNELIDES ET PLANTES EST UNE COÏNCIDENCE DÉPENDANTE DES INTERACTIONS SOUTERRAINES ("BELOWGROUND")?

L'interaction entre annélides et plantes est souvent perçue comme un élément central et de type mutualiste dans l'écosystème (Blouin et al., 2013 ; Eisenhauer et al., 2009 ; Brown et al., 2004 ; Lavelle et al., 1995). Cependant, l'influence positive des plantes sur les annélides, dans les sols contaminés, reste peu démontrée, à part en ce qui concerne la fourniture de nourriture via la litière végétale et les résidus racinaires (Blouin et al., 2013). Lorsqu'ils sont confinés dans un espace restreint, une interaction mutualiste se manifeste entre les plantes et les annélides, comme le montrent les observations d'un meilleur développement et d'une reproduction accrue des vers de terre à proximité du système racinaire (Chapitre 4) et un meilleur développement des populations d'enchytréides en présence de plantes (Chapitre 6).

Cependant, une dynamique "belowground" de type amensaliste a été identifiée, où la présence d'enchytréides n'affecte ni l'activité ni la survie des vers de terre, alors que la présence de ces derniers semble réduire le nombre d'enchytréides dans le sol (Chapitres 6 et 7).

Dans des conditions où les annélides peuvent se déplacer librement (Chapitre 7), leur distribution est influencée par les facteurs environnementaux. Le ver de terre endogé *A. caliginosa* préfère les couches profondes du sol (15-30 cm), où l'humidité est plus stable, ce qui est cohérent avec son écotype et les distributions naturelles (Morgan & Morgan, 1999 ; Pitkänen et Nuutinen, 1997 ; Bouché, 1977). Les enchytréides se répartissent de manière homogène en l'absence de vers de terre, mais en présence de ces derniers, ils migrent vers les zones d'activité des vers, délaissant la rhizosphère. Cette migration semble motivée par la recherche de nourriture, profitant de la richesse en microorganismes et en matière organique des turricules (Pelosi & Römcke, 2016). Ces constats indiquent que, malgré les avantages de la rhizosphère, les annélides ne la privilégient pas forcément pour s'établir et que les interactions "belowground" peuvent même les inciter à délaisser cette zone, ce qui annulerait les effets bénéfiques apportés par les vers de terre et les enchytréides à la rhizosphère.

Ainsi, ces interactions, bien que considérées comme essentielles à l'écosystème, résultent davantage de la coexistence des organismes dans un même volume de sol plutôt que d'une attirance spécifique pour la rhizosphère. Cela implique que l'interaction dépend de l'extension du système racinaire jusqu'à la couche d'activité des annélides.

CONCLUSION GENERALE

A travers ce travail, nous avons montré la persistance de l'interaction sol – plante – ver de terre dans le cadre d'un sol contaminé. Tout d'abord, malgré la contamination, aucun effet de toxicité aiguë n'a été observé sur les annélides et la plante. Toutefois, des effets sublétaux sur le long terme ont été observés chez les vers de terre. Cette faible toxicité se traduit par un maintien du rôle fonctionnel des annélides dans le sol. En effet, ces derniers sont capables, via le travail du sol, de favoriser directement ou indirectement (via les communautés microbiennes) le recyclage des nutriments. Cette augmentation des flux nutritifs se traduit par une amélioration de la production primaire des sols via une amélioration de la production de biomasse aérienne par les plantes. Nous avons ainsi montré une proximité fonctionnelle entre les vers de terre et les enchytréides, permettant d'élargir la notion d'interaction ver de terre – plante à une interaction annélides – plante.

Nous avons également montré une temporalité dans l'interaction sol – plante – ver de terre. En effet, les vers sont capables d'induire une amélioration de la production primaire à court terme mais également à long terme, améliorant durablement la production de biomasse par les plantes.

La bioturbation du sol contaminé par les annélides conduit toutefois à dégrader la capacité du sol à retenir les ET dans le sol et favorise leur passage dans l'eau interstitielle du sol. Toutefois, ces éléments ne sont pas toujours biodisponibles pour les organismes. Nous avons observé un effet de phytostabilisation de la contamination par notre plante d'étude (*L. perenne*). Cette phytostabilisation permet d'augmenter la capacité des sols à héberger à court terme les enchytréides et à long terme les vers de terre, en favorisant leur développement et leur reproduction.

L'arrivée d'un nouveau groupe d'organismes dans le système peut toutefois conduire à une perturbation du sol et une disparition de cette interaction. En effet, la présence de vers de terre limite le nombre d'enchytréides retrouvés dans le sol et à leur éloignement de la zone racinaire des plantes, conduisant à une disparition de leur effet bénéfique sur la croissance des plantes.

Ces résultats tendent à valider l'approche de biofertilisation via une inoculation de vers de terre dans les sols contaminés pour stimuler les fonctions associées au sol. Cependant, même si les vers de terre sont un levier efficace, ils ne sont pas les seuls. Parmi le groupe des annélides, les enchytréides semblent être aussi un levier prometteur. Toutefois, l'inoculation de nouveaux organismes dans un sol contaminé peut aussi déstabiliser les interactions déjà opérantes. Il serait ainsi intéressant d'étudier l'interchangeabilité des espèces impliquées dans cette interaction pour développer un outil adaptable à chaque sol sans perturber les interactions déjà en place.

A travers une approche fonctionnelle, nous avons pu montrer le rôle central de l'interaction sol – plante – annélides dans un contexte contaminé, avec une modulation de trois grandes fonctions écologiques associées au sol. En mettant les organismes en interaction dans les cosmes, nous avons pu observer un effet de la contamination sur les interactions écologiques entre organismes, mais également une modulation de l'impact de la contamination sur les organismes par les interactions écologiques. Nous avons notamment pu montrer l'existence de processus de rétroaction entre la plante et les vers de terre, suggérant l'importance de les prendre en compte pour avancer dans la compréhension des mécanismes sous-jacents aux interactions sol-plante-annélides. Une meilleure prise en compte de l'impact des interactions écologiques sur l'exposition des organismes à la contamination semble donc être un enjeu majeur pour accomplir pleinement une réhabilitation des sols contaminés via un processus de biofertilisation.

ANNEXE 1 – PUBLICATION : THE EFFECT OF EARTHWORM ON PLANT RESPONSE IN METAL CONTAMINATED SOIL FOCUSING ON BELOWGROUND-ABOVEGROUND RELATIONSHIP

Environmental Pollution 274 (2021) 116499



Contents lists available at ScienceDirect

Environmental Pollution

journal homepage: www.elsevier.com/locate/envpol

The effect of earthworms on plant response in metal contaminated soil focusing on belowground-aboveground relationships[☆]

Olivier Hullot^{a,*}, Isabelle Lamy^a, Raphael Tiziani^b, Tanja Mimmo^b, Lisa Ciadamidaro^{a,c}^a Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, UMR ECOSYS, 78026, Versailles, France^b Faculty of Science and Technology, Free University of Bolzano, 39100, Bolzano, Italy^c Université de Bourgogne Franche-Comté, UMR CNRS 6249 Laboratoire Chrono-environnement, Pôle Universitaire du Pays de Montbéliard, 4 place Tharradin, BP 71427, F-25211, Montbéliard, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 23 October 2020

Received in revised form

8 January 2021

Accepted 9 January 2021

Available online 12 January 2021

Keywords:

Biofertilization

Marginal land

Trace element

Bioavailability

Root exudate

ABSTRACT

Contaminated soils are lands in Europe deemed less favourable for conventional agriculture. To overcome the problem of their poor fertility, bio-fertilization could be a promising approach. Soil inoculation with a choice of biological species (e.g. earthworm, mycorrhizal fungi, diazotroph bacteria) can be performed in order to improve soil properties and promote nutrients recycling. However, questions arise concerning the dynamics of the contaminants in an inoculated soil.

The aim of this study was to highlight the soil-plant-earthworm interactions in the case of a slightly contaminated soil. For this purpose, a pot experiment in controlled conditions was carried out during 2 months with a Cd, Zn, and Cu contaminated sandy soil, including conditions with or without earthworms (*Aporrectodea caliginosa*) and with or without plants (*Lolium perenne*).

The three components of the trace element bioavailability were studied to understand the belowground-aboveground relationships and were quantified as followed: i) environmental availability in soils by measuring trace element concentrations in soil solution, ii) environmental bioavailability for organisms by measuring trace element concentrations in depurated whole earthworms bodies and in the plant aerial biomass, and iii) toxicological bioavailability, by measuring survival rate and body weight changes for earthworms and biomass for plants. The results showed that earthworm inoculation increased the content of all studied TE in soil solution. Moreover, lower concentrations of Cd and Zn were found in plants in the presence of earthworms while the bioavailability decreased when compared to the condition without plants. The trace element bioaccumulation in earthworms did not produce a direct toxicity, according to the earthworm survival rate and body weight results.

Finally, our pot experiment confirmed that even in contaminated soils, the presence of *A. caliginosa* promotes plant adaptation and improves biomass production, reducing trace element uptake.

© 2021 The Authors. Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The European directive on renewable energies has set the target that 32% of the energy production has to be achieved with renewable sources by 2030 (Official Journal of the European Union L328/82, 2018). Industrial crops can provide abundant renewable biomass feedstock for the production of high added-value bio-based commodities (i.e. bio-plastics, bio-lubricants, pharmaceuticals, etc.) and bioenergy. Bioenergy production can potentially

compete with food production, as well as increase the destruction of forests or wetlands due to the establishment of new sites for agricultural production systems (Guo et al., 2015). A potential solution to those issues is the rehabilitation of marginal land (Ghezehei et al., 2015). Cultivating industrial crops on land unsuitable for food production is considered a viable alternative to minimize land-use competition for food production (Kang et al., 2013). The term “marginal land” has entered wider political debates, but until now it has been not unequivocally defined. From an economic point of view, marginal land can be defined as soil whose operating costs are higher than the benefits from producing crops on it. However, from an agronomic point of view marginal land can be defined as a land with undesirable characteristic to growth

[☆] This paper has been recommended for acceptance by Markus Hauck.

* Corresponding author.

E-mail address: olivier.hullot@inrae.fr (O. Hullot).

ANNEXE 1 – Publication

ANNEXE 1 - Publication

■

were mixed with 800 mL of water and 1 mL CuCAS solution (Sigma Aldrich, Italy). A blank was also prepared. Samples and standards were measured with a spectrophotometer at 585 nm.

2.8.5. Determination of carboxylates in root by high performance liquid chromatography (HPLC)

Carboxylates were separated on a cation exchange column (Aminex 87-H column, 300 × 7.8 mmol.L⁻¹, 9 mm, Bio-Rad) using an isocratic elution with 10 mmol.L⁻¹ H₂SO₄ as carrier solution at a flow rate of 0.6 mL min⁻¹. Carboxylates were detected at 210 nm using a Waters 2998 photodiode array detector (Waters Spa, Italy). Standard carboxylates were prepared as individual stock solutions, using Sigma (Italy) reagent grade compounds, and then combined to give diluted reference standards. Comparing the retention times of unknown compounds with those of pure compounds allowed the detection of carboxylates.

2.9. Statistical analysis

All data were analysed with R® software, version 3.6.1 (The R Foundation for Statistical Computing Platform, 2019). Differences were considered significant when the p-values were lower than 0.05. When the homogeneity of variance (Bartlett test, [Snedecor, and Cochran, 1989](#)) and the normality of residuals (Shapiro test) were respected, ANOVA and Tukey's Honestly Significant Difference post-hoc tests were performed to analyse the differences among treatments. When normality and homoscedasticity conditions were not satisfied, the non-parametric Kruskal-Wallis test was used. Pearson's correlation test was performed to determine the relationship between the different parameters.

3. Results

3.1. Earthworm analyses

The total initial weight of the EW introduced in pots (SE and SEP) were almost the same: 3.4 and 3.2 g, respectively ([Table 2](#)). After 8 weeks, EW biomass significantly increased when inoculated without plant (SE), reaching 4.2 g. No significant differences were measured in SEP conditions ([Table 2](#)). Overall, after eight weeks of incubation, the survival rate of EW reached 98% for both conditions.

3.2. Effect of earthworm on plant growth

Shoot and root biomass (DW) are reported in [Fig. 1](#). In general, values of root biomass were always higher for both conditions in contaminated soil (SP and SEP) if compared to shoot biomass. The presence of EW significantly increased *L. perenne* shoot biomass by 22% ($p < 0.01^{**}$) and significantly decreased root biomass by 75% ($p < 0.01^{**}$) on contaminated soil for SEP and SP conditions. However, a reduction of shoot biomass by 23% and increase of root biomass by a factor 6 of SP was observed if compared with the NC reference. No significant differences between SEP et NC treatments were observed for both shoot and root biomass.

Table 2

Body weight (g) and survival rate of earthworms. Significant differences between values are reported with different letter for earthworm biomass and with different number for earthworm survival rate ($p < 0.05$).

	Body weight		Survival rate
	Before incubation	After incubation	
SE	3.4 ± 0.2 (a)	4.2 ± 0.4 (b)	98% (1)
SEP	3.2 ± 0.3 (a)	3.3 ± 0.4 (a)	98% (1)

3.3. Effect of earthworm on root exudation

[Table 3](#) reports root exudates detected in the collected solutions of the SP and SEP conditions. While root exudates have been analysed for TOC, TN, total phenols, total flavonoids, chelating compounds, and carboxylates, our results show that the EW presence affected significantly only the chelating compounds. The SEP treatment showed a 150% lower concentration of chelating compounds in the rhizosphere of *L. perenne* compared to those in SP.

3.4. Effect of earthworm on availability of trace elements in soil

Values of CaCl₂ extractable TE concentrations are reported in [Table 4](#). Cd contents were always found below the quantification limits. No differences between the conditions (S, SE, SP and SEP) were observed for the Zn and Cu content extracted by 0.01 mol.L⁻¹ CaCl₂. Concentrations remained stable, despite low variation associated to organisms activities (e.g. EW cast production and root exudation), during the experiment (around 800 mg kg⁻¹ for Zn and 200 mg kg⁻¹ for Cu).

3.5. Effect of earthworm on soil pore water characteristics

Values of SPW pH and DOC determined every 2 weeks are reported in [Fig. 2](#). Initial pH values ranged between 7.5 and 7.7 for all the conditions and remained constant over time for soils without EW and plant (S). For the other conditions we observed two different tendencies depending on the presence or absence of plant. In the presence of EW (SE condition), SPW pH rapidly decreased during the first two weeks then remained stable until the end of the experimentation, reaching values of almost 1/2 fold lower compared to the control SPW pH (S condition). On the contrary, the presence of plant (with and without EW) maintained pH values constant and similar to S condition during the first two weeks and successively induced a significant increase during the rest of the experiment, until SPW pH values of 8.4. In general, except for initial sampling, pH values for the three conditions (SE, SP and SEP) were always significantly different when compared to the control condition (S) ([Fig. 2A](#)).

SPW dissolved organic carbon showed opposite behaviour to pH. Initial DOC contents were similar between all conditions but significant differences were observed afterwards. For the control sample (S), a slight decrease in DOC content from week 4 was observed then the value was maintained until the end of the experimentation. For the other three conditions an increase in SPW DOC was shown from week 2. In presence of EW (SE), and after a decrease in DOC in week 4, DOC values remained constant over time until the week 8 and always significantly higher compared to values for control condition (S). Contrasting behaviour was found in the presence of plants with or without EW (SEP and SP), characterized by a marked decrease in SPW DOC since week 4, until values close to 0 at the end of the experimentation ([Fig. 2B](#)).

In order to highlight relationships between SPW parameters (pH, and DOC and TE concentrations), a correlation test was performed ([Fig. 3](#)). A significant negative correlation was found between Zn concentration and SPW pH, but no significant correlation was obtained with DOC (data not shown). Cu exhibited a different pattern, with a positive correlation with DOC but not with pH values ([Fig. 3B](#)).

3.6. Earthworm and plant response to trace element availability

Cd and Zn concentrations in EW bodies increased significantly when growing in the presence of plants, reaching values of 16.87 mg g⁻¹ for Cd and 865.2 mg g⁻¹ for Zn, respectively ([Table 5](#)).

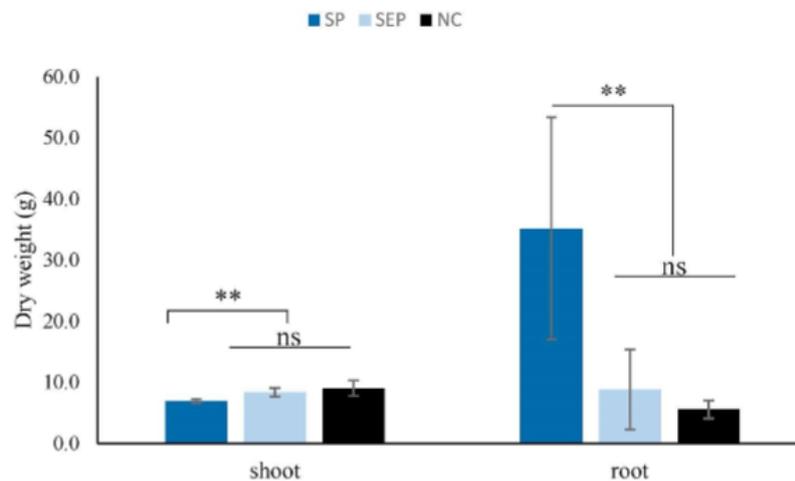


Fig. 1. Plant biomass (DW) of *L. perenne* (n = 6). **p < 0.01.

Table 3

Composition of root exudates. TOC = total organic carbon; TN = total nitrogen; FW = fresh weight; EDTA = Ethylenediaminetetraacetic acid; eq. = equivalent; SP = contaminated soil and plant; SEP = contaminated soil, plant, and earthworm; ns = non-significant. Mean values \pm standard deviation, n = 12. Statistical significance according to Mann-Whitney Rank Sum *t*-test with $p < 0.05$.

	SP	SEP	p-value
TOC (mg.g ⁻¹ root FW)	1.03 \pm 0.96	0.92 \pm 0.9	ns
TN (mg.g ⁻¹ root FW)	0.02 \pm 0.02	0.02 \pm 0.02	ns
Total phenols (mg gallic acid eq. .g ⁻¹ root FW)	0.05 \pm 0.03	0.02 \pm 0.01	ns
Total flavonoids (mg rutin eq. .g ⁻¹ root FW)	0.20 \pm 0.09	0.22 \pm 0.16	ns
Chelating compounds (mg EDTA eq. .g ⁻¹ root FW)	1.85 \pm 1.25a	0.59 \pm 0.38 b	0.014
Citrate (mg.g ⁻¹ root FW)	0.84 \pm 0.63	0.46 \pm 0.32	ns
Malate (mg.g ⁻¹ root FW)	3.76 \pm 3.73	2.44 \pm 1.35	ns
Lactate (mg.g ⁻¹ root FW)	6.11 \pm 4.59	4.35 \pm 2.44	ns

Table 4

Trace elements concentrations (mg.kg⁻¹) in CaCl₂ extracts. Mean values \pm Standard deviation (n = 6). Significant differences between values are reported with different letter in each two weeks separately between Cu and Zn ($p < 0.05$).

Element	Condition	Week 0	Week 2	Week 4	Week 6	Week 8
Cu	S	226.0 \pm 28.1 (a)	120.9 \pm 27.0 (a)	120.4 \pm 37.6 (a)	164.9 \pm 40.9 (ab)	120.4 \pm 21.7 (a)
	SE	176.9 \pm 23.9 (b)	152.7 \pm 15.1 (a)	221.5 \pm 86.3 (a)	220.6 \pm 18.2 (a)	170.3 \pm 10.1 (b)
	SEP	380.4 \pm 69.7 (c)	133.8 \pm 39.9 (a)	107.1 \pm 54.0 (b)	194.0 \pm 37.3 (a)	260.9 \pm 157.2 (b)
Zn	SE	186.4 \pm 48.0 (a)	124.5 \pm 38.8 (a)	128.2 \pm 28.6 (ab)	137.1 \pm 28.6 (b)	164.7 \pm 31.6 (ab)
	S	790.8 \pm 624.9 (a)	903.3 \pm 458.0 (a)	920.3 \pm 535.0 (a)	699.2 \pm 547.2 (ab)	572.0 \pm 336.5 (a)
	SEP	994.7 \pm 128.5 (a)	1068.3 \pm 67.8 (a)	1038.8 \pm 56.9 (a)	1006.5 \pm 60.3 (a)	1005.5 \pm 59.8 (a)
Zn	SP	1326.2 \pm 727.9 (a)	1127.0 \pm 511.0 (a)	1041.4 \pm 532.7 (a)	519.2 \pm 185.3 (b)	835.5 \pm 382.7 (a)
	SEP	924.5 \pm 368.6 (a)	905.5 \pm 542.5 (a)	759.2 \pm 307.7 (a)	480.5 \pm 161.9 (a)	638.2 \pm 257.3 (a)

However, only EW internal Cd concentration in the presence of plant was significantly higher when compared to the EW growing in the breeding soil (13.09 mg.g⁻¹, data not shown). For Cu, we did not observe any modification in EW internal concentration between the two conditions SE and SEP, with values ranging between 26.43 and 28.05 mg.g⁻¹. Cu contents were significantly higher when compared to the EW growing in breeding soil (13.13 mg.g⁻¹, data not shown).

Regarding plant samples, TE concentrations were always higher in root tissues compared to shoots. EW presence did not modify plant TE contents, except for Zn concentration in shoots. The root/shoot ratio calculated for the SP and SEP conditions showed similar values in the presence or absence of EW (Cu: 6.71; Zn: 1.83; Cd: 7.29). Higher Cd and Zn concentrations in shoot and root tissues were found in plants that have grown in CHV soil compared to the

plant growing in NC horticultural substrate, whereas no significant differences were found for Cu concentration in both shoots and roots (Table 5).

4. Discussion

4.1. Response of biological material to integrated stress environment

The high survival rate of EW (98%) showed a limited toxicity effect of TE contamination on EW. This is consistent with the low concentrations of TE detected in EW bodies, except for Cu concentrations that were higher in EW incubated in CHV when compared with EW growing in breeding soil. Some authors (González-Alcaraz et al., 2018; Vijver et al., 2005) observed low

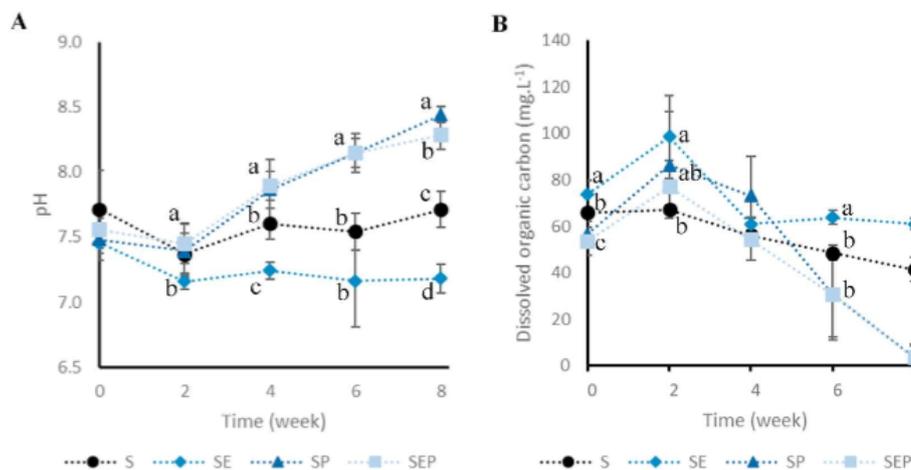


Fig. 2. Evolution in time of pH values (A) and Dissolved organic carbon values (B) in SPW (n = 6). Significant differences between values are reported with different letter in each two weeks ($p < 0.05$).

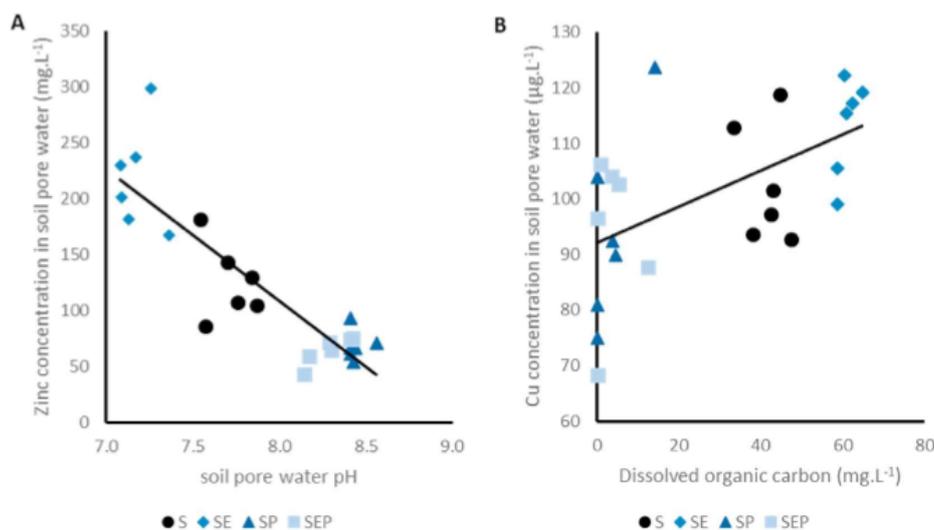


Fig. 3. Correlation between SPW pH and SPW Zn concentration (A) and between SPW dissolved organic carbon and SPW Cu concentration (B).

Table 5
Trace element concentrations (mg.g^{-1}) in earthworm bodies and plant biomass (mg.g^{-1}) (shoot and root) for the studied soil. Mean values \pm Standard deviation (n = 6). Significant differences between values are reported with different letter in each row and separately between earthworm and plant biomass ($p < 0.05$).

	Earthworms		Plants			
	SE	SEP	SE		SEP	
			shoot	root	shoot	root
Cu	28.05 \pm 4.31 (b)	26.43 \pm 5.78 (b)	28.34 \pm 5.12 (a)	113.78 \pm 28.37 (b)	27.23 \pm 5.46 (a)	242.38 \pm 172.45 (b)
Zn	715.37 \pm 110 (a)	865.20 \pm 57.01 (b)	227.01 \pm 25.01 (a)	363.77 \pm 87.70 (c)	192.89 \pm 24.07 (b)	392.34 \pm 126.20 (c)
Cd	12.40 \pm 1.24 (a)	16.87 \pm 2.34 (b)	0.90 \pm 0.24 (a)	6.42 \pm 2.75 (b)	0.75 \pm 0.23 (a)	5.64 \pm 2.35 (b)

concentrations of Zn and Cd on other EW species (*Eisenia andrei*, *Lumbricus rubellus*) that were attributed to the rapid accumulation and elimination of these two elements in EW body. In our case, the low internal EW content can be attributed either to non-available

Cd and Zn species in soil, or to the development of a fast balance between accumulation and elimination of toxic elements elaborated by EW body. In the case of Cu, different behaviour was observed due to the complex conduct of this element in presence of

organic carbon.

In our conditions only Cd concentrations in *L. perenne* were in the background range found for plants (Chaney, 1989) while for Cu and Zn, concentrations in shoots tended to be higher, especially for Zn (227 mg g^{-1}).

Finally, our results showed that inoculation of EW in CHV soil enhanced plant growth. Although it is well known that EW can enhance plant growth in fertile soil (van Groenigen et al., 2014), just limited research is available on the ability of EW to improve plant growth in TE contaminated soil (Dandan et al., 2007). EW can improve plant development by two main mechanisms: increasing nutrients availability and improving soil structure (van Groenigen et al., 2014). In our controlled conditions, we hypothesise that EW presence positively influenced soil conditions and in particular soil structure, promoting an increase in root system development. The high root density observed in our experiment could be consistent with this hypothesis. Indeed, in our study the root density was lower in the presence of EW (SEP) but this was attributed to their burrowing activity that partially damaged the root system. Accordingly, Brown et al. (2004) suggested that EW activities could negatively affect plant roots by abrasion without affecting drastically final plant growth. Although a significant difference between root and shoot biomass in presence of EW was observed, the final biomass production was much higher when compared to the condition without EW inoculation (SP). In our case, a lower root density could also indicate an increase in plant nutrition condition due to the earthworm presence. Indeed, Arnone and Zaller (2014) observed a similarly trend: when the density of EW increased the root density in a grassland decreased. This decrease was attributed to a rise in bioturbation while, at the same time, it was compensated by an increase in nutrient bioavailability.

4.2. Changes in SPW characteristics due to plant and earthworm presence

Overall, we observed that the effect of *L. perenne* on SPW characteristics was higher than that of EW, especially when considering pH and DOC contents.

In this regard, as found in previous studies (Haynes, 1990; Marschner, 1995; Lombi et al., 2000), pH modifications in rhizospheric soil can be mainly explained by the excretion of H^+ , HCO_3^- and organic acids by the root system in order to firstly increase the availability and the uptake of nutrients and secondly to maintain the cytosolic pH into an optimal range of 7.2e7.4 unit due to the uptake of nutrient as nitrogen. For instance, the uptake of N in the form of NO_3^- induces the release of HCO_3^- which could induce an

alkalinisation of the rhizospheric soil (Bravin et al., 2008). The modification of pH in the rhizosphere also influences the phytoavailability of TE. Indeed, the alkalinisation of the rhizosphere reduces the phytoavailability of TE by increasing the immobilization and precipitation of TE (Lombi et al., 2000). These findings are consistent with the significant increase in SPW pH obtained in all the conditions in the presence of *L. perenne*. On the contrary, in our study the presence of *A. caliginosa* induces a decrease in SPW pH by 0.5 units in the absence of plants. Literature shows that the impact of earthworm on soil pH is dependent on EW species, some are known to induce a soil pH decrease where others can induce a soil pH increase (Sizmur et Hodson, 2009). However, when both plants and earthworms are present, SPW pH was shown to increase as in the case of the presence of plants alone, suggesting that plants have a higher impact than earthworm in our conditions.

Our SPW DOC results are consistent with those of some authors (Girard and Walter, 2005; Bailey et al., 2019) who showed the importance of plant and soil organisms on the dynamic of DOC in soil due to addition or mineralization of organic compounds in the

soil solution. Indeed, they suggested that the microbial community is boosted in the rhizosphere thanks to the presence of rhizodeposits produced by plant roots. An enhanced microbial activity might lead to triggered degradation of available organic carbon in SPW (Girard and Walter, 2005) and bringing a reduction of DOC, as observed in our experiment.

Conversely, it has been suggested that EW activity increased the DOC in SPW by two possible direct mechanisms: i) the high production of soluble organic carbon in mucus (Brown et al., 2004) and ii) the bioturbation of soil organic matter caused by burrowing activity (Bailey et al., 2019). One another possible indirect mechanism can be the acidification of soil and SPW pH (Strobel et al., 2005).

Nevertheless, as observed from our results, EW and plant activities lead to opposite effects on pH. EW presence induced a SPW acidification and an increase in DOC whereas plant presence induced an alkalinisation.

4.3. Changes in SPW and soil characteristics due to earthworm and plant presence affect TE mobility

Between the different parameters able to affect TE mobility, it is well known that pH and DOC are the two most important factors in controlling the total concentration of TE dissolved in soil solution (Swift et Mc Laren, 1991; Sauve et al., 1997).

In our study, the SPW pH seems to be the main factor explaining the solubilisation of Zn and Cd. This hypothesis is supported by other studies in which negative correlation between pH and Zn and Cd concentration in soil solution were found (Sauve et al., 2000). On the contrary, the primary factor, which seems to control Cu solubility in our work, is DOC. This finding is not surprising as it is well known the existence of strong positive correlation between these two parameters (Chien et al., 2021). Indeed, as expected the increase of DOC in SPW, produced an increment of Cu concentration in soil solution in presence of EW, due to the formation of strong complex between Cu and organic carbon in SPW (McBride et al., 1997; Brunetto et al., 2018). However, the originality of our results is that in presence of EW the mucus produced and released in SPW by these organisms rise TE concentration via the creation of organo-metal complexes (Sizmur and Hodson, 2009). Moreover, by decreasing the pH in soil and SPW, EW could have also reinforced at the same time the solubilisation of Cu, Zn and Cd by increasing proton activity (Strobel et al., 2005). According to these results, we can suggest that inoculation of *A. caliginosa* in soil induced a promotion of the transition of TE from the solid to the solution soil phase. However, other studies demonstrated that pH modifications

are not the only responsible for the increase in TE availability (Ma et al., 2002, 2003; Udovic and Lestan, 2007). Indeed, Sizmur and Hodson (2009) observed an increase in soil pH due to EW presence and at the same time an increase in TE availability, suggesting that pH is not the only parameter in influencing Zn and Cd mobility.

We observed a different behaviour in the conditions with plants. They were able to increase soil pH and induce a reduced mobility of TE in soil, decreasing in that way the fluxes from soil to SPW. The alkalinisation of SPW by plant may favour the precipitation of soluble Zn, Cd and Cu. This is consistent by the higher concentration of TE in the belowground tissues compared to the aboveground compartment of plants in our experiment. As observed previously, other authors (Ahumada et al., 2009; Cutillas-Berreiro et al., 2017) also found a higher concentration of different TE in roots when compared with shoots. This indicates that ryegrass can limit the translocation of TE into different plant compartments and can immobilize TE in the belowground compartment. It has been demonstrated that one of the possible mechanisms associated to the reduced mobility of TE in ryegrass plant might be the

accumulation of Cu in apoplasm of root tissues (Marastoni et al., 2019). Indeed, due to the alkalization occurring in the rhizosphere, the number of negative binding sites of the root apoplast increases and induces a TE element adsorption on roots cell walls. According to previous studies (Macnicol and Beckett, 1985; Davis et al., 1978), critical values of TE concentrations in tissues of different species of plants were established. For the shoot tissues these critical values are respectively 21 mg g⁻¹ for Cu, between 370 and 560 mg g⁻¹ for Zn and between 30 and 35 mg g⁻¹ for Cd. In our work, only Cu concentrations in shoots for both conditions (SP and SEP) were higher than these critical values for plant health. It is well known that high concentration of Cu may induce sublethal toxicity, as, e.g. a reduction of plant growth (Davis et al., 1978; Brunetto et al., 2018), however no visible toxicity was observed in our experimentation.

Root exudates are part of the DOC and are thus crucial in determining the availability of TE (Chen et al., 2017; Ghori et al., 2019). Indeed, the release of low molecular weight compounds belongs to tolerance mechanisms against TE. However, little is known how earthworms influence the exudation of those compounds in the presence of TE. This study revealed that the exudation pattern of *L. perenne* was not altered greatly by the EW. The only exudate class which was significantly changed were the chelating compounds. When plants were in contact with EW, they exuded significantly lower concentrations of chelating compounds than without worms. This leads to the assumption that the earthworms reduce the need of the plant to exude those compounds either by reducing the availability of TE (Anyanwu et al., 2018; Kizilkay et al., 2014) through their digestion or by reducing the exposure of plant roots to those harmful elements. However, more research is needed to make definite conclusions.

5. Conclusion

Overall, this study revealed that *A. caliginosa* inoculation promotes plant adaptation, leading to an increase in aboveground plant biomass and a reduction of TE uptake. EW presence also modified the exudation pattern by the decrease of chelating compounds, which indicates a reduction of TE exposure. However, although both plant and earthworm influenced soil and SPW characteristics and TE mobility under our conditions, we observed that influence of a developed root system was the principal factor in driving the pot system and limiting earthworm growth. Finally, earthworm × plant interaction induces a modification in Zn bioavailability with an increase in Zn concentration in earthworm body and a decrease in Zn concentration in plants.

Finally, further studies are required to establish potential toxicity of TE on EW in presence of plants and their consequences in the long term.

Author statement

Olivier Hulot: Conceptualization, Methodology, Investigation, Writing - Original Draft. Isabelle Lamy: Conceptualization, Validation, Funding acquisition, Writing - Review & Editing. Raphael Tiziani: Methodology, Formal analysis, Writing - Original Draft. Tanja Mimmo: Methodology, Formal analysis, Writing - Original Draft. Lisa Ciadamidaro: Project administration, Supervision, Writing - Review & Editing.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

This research was supported by the MAGIC project, which has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation program under grant agreement no. 727698.

Authors thank Véronique Etievant, Sébastien Breuil, Amélie Trounev for their help and technical assistances. We thank Audrey Huang for the assistance during the experiment and all the staff of EcoSys and internship who participated in this work.

References

- Ahumada, I., Gudenschwager, O., Carrasco, M., Castillo, G., Ascar, L., Richter, P., 2009. Copper and zinc bioavailabilities to ryegrass (*Lolium perenne* L.) and subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) grown in biosolid treated Chilean soils. *J. Environ. Manag.* 90 (8), 2665–2671. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2009.02.004>.
- Anyanwu, I., Alo, M., Onyekwere, A., Crosse, J., Nworie, O., Uwa, C., Faruque Hossain, M., 2018. Data on heavy metals content and biochar toxicity in a pristine tropical agricultural soil. Data in Brief 18, 1064–1068. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.03.123>.
- Arnone, J., Zaller, J., 2014. Earthworm effects on native grassland root system dynamics under natural and increased rainfall. *Front. Plant Sci.* 5 <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00152>.
- Atanasova, M., Georgieva, S., Ivancheva, K., 2011. Total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant capacity and biological contaminants in medicinal herbs. *J. Univ. Chem. Technol. Metall.* 46 (1), 81–88.
- Aulakh, M.S., Wassmann, R., Bueno, C., Kreuzwieser, J., Rennenberg, H., 2001. Characterization of root exudates at different growth stages of ten rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Plant Biol.* 3 (2), 139–148. <https://doi.org/10.1055/s-2001-12905>.
- Bailey, V., Hicks Pries, C., Lajtha, K., 2019. What do we know about soil carbon destabilization? *Environ. Res. Lett.* 14 (8) <https://doi.org/10.1088/1748-9326/ab2c11>.
- Baize, D., Cam, P., 2003. Etude des sols d'un secteur de Triel sur Seine e Chanteloup les Vignes et Carrierées sous Poissy (Yvelines) et de leurs teneurs en cadmium, cuivre, plomb et zinc. Inrae, p. 23. Internal report.
- Bart, S., Amosse, J., Lowe, C., Mougin, C., PaDry, A., Pelosi, C., 2018. *Aporrectodea caliginosa*, a relevant earthworm species for a posteriori pesticide risk assessment: current knowledge and recommendations for culture and experimental design. *Environ. Sci. Pollut. Control Ser.* 25 (34), 33867–33881. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2579-9>.
- Bravin, M., 2008. Processus rhizosphériques déterminant la biodisponibilité de cuivre pour le blé dur cultivé en sols à ane d'ident vitirole. Ecologie doctorale Systèmes Intégrés en Biologie, Agronomie, Géosciences, Hydrosciences et Environnement, pp. 1e237. www.supagro.fr/theses/extranet/08-0021_Bravin.pdf.
- Brown, G., Edwards, C., Brussaard, L., 2004. How earthworms affect plant growth: burrowing into the mechanisms. In: Edwards, C. (Ed.), *Earthworm Ecology*. CRC Press LLC, pp. 14e37.
- Brunetto, G., Bastos de Melo, G., Terzano, R., Del Buono, D., Astolfi, S., Tomasi, N., Pii, Y., Mimmo, T., Cesco, S., 2018. Copper accumulation in vineyard soils: rhizosphere processes and agronomic practices to limit its toxicity. *Chemosphere* 162, 293e307. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.07.104>.
- Chaney, R.L., 1989. Toxic element accumulation in soils and crops: protecting soil fertility and agricultural food-chains. In: Bar-Yosef, B., Barrow, N., Goldahmid, J. (Eds.), *Inorganic Contaminants in the Vadose Zone*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 140e158.
- Chen, Y., Wang, Y., Yeh, K., 2017. Role of root exudates in metal acquisition and tolerance. *Curr. Opin. Plant Biol.* 39, 66e72. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2017.06.004>.
- Chien, S., Wang, H., Chen, Y., Wang, M., Liu, C., 2021. Removal of heavy metals from contaminated paddy soils using chemical reductants coupled with dissolved organic carbon solutions. *J. Hazard Mater.* 403 <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123549> article number 123549.
- Cutillas-Barreiro, L., Fernandez-Calvino, D., Nunez-Delgado, A., Fernandez-Sanjurjo, M., Alvarez-Rodriguez, E., Novoa-Munoz, J., Arias-Esteviz, M., 2017. Pine bark amendment to promote sustainability in Cu-polluted acid soils: effects on *Lolium perenne* growth and Cu uptake. *Water Air Soil Pollut.* 228, 1e11. <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3437-y> article 260.
- Dandan, W., Huixin, L., Xia, W., 2007. Role of earthworm-straw interactions on phytoremediation of Cu contaminated soil by ryegrass. *Acta Ecol. Sin.* 27 (4), 1292e1299. [https://doi.org/10.1016/S18726203\(07\)60030-4](https://doi.org/10.1016/S18726203(07)60030-4).
- Davis, R., Beckett, P., Wollan, E., 1978. Critical levels of twenty potentially toxic elements in young spring barley. *Plant Soil* 49, 395e408. <https://doi.org/10.1007/BF02149747>.
- Ghezzehei, S.B., Shiffert, S.D., Hazel, D.W., Nichola, E.G., 2015. SRWC bioenergy productivity and economic feasibility on marginal lands. *J. Environ. Manag.* 160, 57e68. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.05.025>.
- Ghori, N., Ghori, T., Hayat, M., Imadi, S., Gul, A., Altay, V., Ozturk, M., 2019. Heavy metal stress and responses in plants. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 16, 1807e1828.

- <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02215-8>.
- Girard, M., Walter, C., 2005. *Sols et environnement*, Dunod, p. 816.
- González-Alcaraz, M.N., Loureiro, S., van Gestel, C.A.M., 2018. Toxicokinetics of Zn and Cd in the earthworm *Eisenia andrei* exposed to metal-contaminated soils under different combinations of air temperature and soil moisture content. *Chemosphere* 197, 26e32. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.019>.
- Gopalakrishnan, G., Cristina Negri, M., Snyder, S.W., 2011. A novel framework to classify marginal land for sustainable biomass feedstock production. *J. Environ. Qual.* 40 (5), 1593e1600. <https://doi.org/10.2134/jeq2010.0539>.
- Guo, M., Song, W., Buhain, J., 2015. Bioenergy and biofuels: history, status, and perspective. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 42, 712e725. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.10.013>.
- Haynes, R., 1990. Active ion uptake and maintenance of cation-anion balance: a critical examination of their role in regulating rhizosphere pH. *Plant Soil* 126, 247e264. <https://doi.org/10.1007/BF00012828>.
- Houba, V., Lexmond, T., Novozamaky, I., van der Lee, J., 1996. State of the art and future developments in soil analysis for bioavailability assessment. *Sci. Total Environ.* 178 (1e3), 21e28. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(95\)04793-X](https://doi.org/10.1016/0048-9697(95)04793-X).
- Kang, S., Post, W., Nichols, J., Wang, D., West, T., Bandaru, V., Izaurralde, R., 2013. Marginal lands: concept, assessment and management. *J. Agric. Sci.* 5 (5), 129e139. <https://doi.org/10.5539/jaa.v5n5p129>.
- Kuzilkaya, R., Turkay, F., 2014. Vermicomposting of anaerobically digested sewage sludge with hazelnut husk and cow manure by Earthworm *Eisenia foetida*. *Compost Sci. Util.* 22 (2), 68e82. <https://doi.org/10.1080/1065657x.2014.895454>.
- Lamy, I., van Oort, F., Dere, C., Baize, D., 2006. Use of major- and trace-element correlations to assess metal migration in sandy Luvisols irrigated with wastewater. *Eur. J. Soil Sci.* 57, 731e740. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2005.00765.x>.
- Laesi, K., Decaens, T., Jouquet, P., Barot, S., 2010. Can we predict how earthworm effects on plant growth vary with soil properties? *Applied and Environmental Soil Science* 2010. <https://doi.org/10.1155/2010/784342>.
- Liu, T., McConkey, B., Ma, Z., Liu, Z., Li, X., Cheng, L., 2011. Strengths, weaknesses, opportunities and threats analysis of bioenergy production on marginal land. *Energy Procedia* 5, 2378e2386. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2011.03.409>.
- Lombi, E., Wenzel, W.W., Gobran, G.R., Adriano, D.C., 2000. Dependency of phytoavailability of metals on indigenous and induced rhizosphere processes: a review. In: Gobran, G., Wenzel, W., Lombi, E. (Eds.), *Trace Elements in the Rhizosphere*. CRC Press, Boca Raton, Florida, p. 321.
- Ma, Y., Dickinson, N., Wong, M., 2002. Toxicity of Pb/Zn mine tailings to the earthworm *Pheretima* and the effects of burrowing on metal availability. *Biol. Fertil. Soils* 36 (1), 79e86. <https://doi.org/10.1007/s00374-002-0506-0>.
- Ma, Y., Dickinson, N., Wong, M., 2003. Interactions between earthworms, trees, soil nutrition and metal mobility in amended Pb/Zn mine tailings from Guangdong, China. *Soil Biol. Biochem.* 35 (10), 1369e1379. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00216-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00216-5).
- Macnicol, R., Beckett, P., 1985. Critical tissue concentrations of potentially toxic elements. *Plant Soil* 85 (1), 107e129. <https://doi.org/10.1007/BF02197805>.
- Marastoni, L., Tauber, P., Pii, Y., Valentinuzzi, F., Astolfi, S., Simoni, A., Brunetto, G., Cesco, S., Mimmo, T., 2019. The potential of two different *Avena sativa* L. cultivars to alleviate Cu toxicity. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 183, 1e9. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109430> article number 109430.
- Marachner, H., 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press, London, p. 889.
- McBride, M., Sauve, S., Hendershot, W., 1997. Solubility control of Cu, Zn, Cd and Pb in contaminated soils. *Eur. J. Soil Sci.* 48 (2), 337e346. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1997.tb00554.x>.
- Miliauskas, G., Venakutonia, P., van Beek, T., 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem.* 85 (2), 231e237. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.05.007>.
- Mimmo, T., Pii, Y., Valentinuzzi, F., Astolfi, S., Lehto, N., Robinson, B., Brunetto, G., Terzano, R., Cesco, S., 2018. Nutrient availability in the rhizosphere: a review. *Acta Hort.* 1217, 13e27. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1217.2>.
- Official Journal of the European Union L 328 (2018) volume 61.
- The R Foundation for Statistical Computing Platform, 2019.
- Sauve, S., McBride, M., Norvell, W., Hendershot, W., 1997. Copper solubility and speciation of in situ contaminated soils: effects of copper level, pH and organic matter. *Water Air Soil Pollut.* 100, 133e149. <https://doi.org/10.1023/A:1018312109677>.
- Sauve, S., Hendershot, W., Allen, H., 2000. Solid-solution partitioning of metals in contaminated soils: dependence on pH, total metal burden, and organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 34 (7), 1125e1131. <https://doi.org/10.1021/es9907764>.
- Schroder, P., Beckers, B., Daniels, S., Gnaldinger, F., Maestri, E., Marmiroli, N., Menche, M., Millan, R., Obermeier, M.M., Oustriere, N., Persson, T., Poehnerrieder, C., Rineau, F., Rutkowska, B., Schmid, T., Szulc, W., Witters, N., 2017. Intensify production, transform biomass to energy and novel goods and protect soils in Europe - a vision how to mobilize marginal lands. *Science of the Total Environment* 616e617, 1101e1123. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.209>.
- Shenker, M., Hadar, Y., Chen, Y., 1995. Rapid method for accurate determination of colorless siderophores and synthetic chelates. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59 (6), 1612e1618.
- Sizmur, T., Hodson, M., 2009. Do earthworms impact metal mobility and availability in soil? a review. *Environ. Pollut.* 157 (7), 1961e1989. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.02.029>.
- Snedecor, G., Cochran, W., 1989. *Statistical method*, 8th. Ames: Iowa State University Press, pp. 1e524.
- Strobel, B., Borggaard, O., Hansen, H., Andersen, M., Raulund-Rasmussen, K., 2005. Dissolved organic carbon and decreasing pH mobilize cadmium and copper in soil. *Eur. J. Soil Sci.* 56 (2), 189e196. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2004.00661.x>.
- Swift, R., McLaren, R., 1991. Micronutrient adsorption by soils and soil colloids. In: Bolt, G., Boodt, M., Hayes, M., McBride, M. (Eds.), *Interactions at the Soil Colloid-Soil Solution Interface*. Kluwer Academic Publications, Dordrecht, pp. 257e292.
- Udovic, M., Lestan, D., 2007. The effect of earthworms on the fractionation and bioavailability of heavy metals before and after soil remediation. *Environ. Pollut.* 148 (2), 663e668. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.11.010>.
- Van Groenigen, J., Lubbers, I., Vos, H., Brown, G., De Deyn, G., van Groenigen, K., 2014. Earthworms increase plant production: a meta-analysis. *Sci. Rep.* 4 <https://doi.org/10.1038/srep06365> article number 6365.
- Vives-Peris, V., de Ollas, C., Gómez-Cadenas, A., Pérez-Clemente, R., 2019. Root exudates: from plant to rhizosphere and beyond. *Plant Cell Rep.* 39, 3e17. <https://doi.org/10.1007/s00299-019-02447-5>.
- Vivjer, M., Vink, J., Jager, T., Wolterbeek, H., van Straalen, N., van Gestel, A., 2005. Biphasic elimination and uptake kinetics of Zn and Cd in the earthworm *Lumbricus rubellus* exposed to contaminated floodplain soil. *Soil Biol. Biochem.* 37 (10), 1843e1851. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.02.016>.
- York, L.M., Carminati, A., Mooney, S.J., Ritz, K., Bennett, M.J., 2016. The holistic rhizosphere: integrating zones, processes, and semantics in the soil influenced by roots. *J. Exp. Bot.* 67, 3629e3643. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw108>.

BIBLIOGRAPHIE

A

Abbas, T., Rizwan, M., Ali, S., Zia-ur-Rehman, M., Farooq Qayyum, M., Abbas, F., Hannan, F., Rinklebe, J., Sik Ok, Y., 2017. Effect of biochar on cadmium bioavailability and uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in a soil with aged contamination. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 140, p. 37 - 47. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2017.02.028

Abedi, T., Mojiri, A., 2020. Cadmium uptake by wheat (*Triticum aestivum* L.): An overview

Adams, M., Zhao, F., McGrath, S., Bicholson, F., Chambers, B., 2004. Predicting cadmium concentrations in wheat and bartley grain using soil properties. *Journal of Environmental Quality*, vol. 33, iss. 2, p. 532 - 541. DOI: 10.2134/jeq2004.5320

Adriano, D., Wenzel, W., Vangronsveld, J., Bolan, N., 2004. Role of assisted natural remediation in environmental cleanup. *Geoderma*, vol. 122, iss. 2 - 4, p. 121 - 142. DOI: 10.1016/j.geoderma.2004.01.003

Aerts, R., Chapin, F., 1999. The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of processes and patterns. *Advances in ecological research*, vol. 30, p. 1 - 67. DOI: 10.1016/S0065-2504(08)60016-1

Agbenin, J., Henningsen, P., 2001. The status and dynamics of some trace elements in a savanna soil under long-term cultivation. *Science of The Total Environment*, vol. 227, iss. 1 - 3, p. 57 - 68. DOI: 10.1016/S0048-9697(00)00859-7

Ahalya, N., Ramachandra, T., Kanamadi, R., 2003. Biosorption of heavy metals. *Research Journal of Chemistry and Environment*, vol. 7, iss. 4, p. 71 - 78.

Aira, M., Dominguez, J., 2011. Earthworm effects without earthworms: inoculation of raw organic matter with worm-worked substrates alter microbial community functioning. *PLoS ONE*, vol. 6, iss. 1, id. e16354. DOI: 10.1371/journal.pone.0016354

BIBLIOGRAPHIE

Atanassova, M., Georgieva, S., Ivancheva, K., 2011. Total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant capacity and biological contaminants in medicinal herbs. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, vol. 46, iss. 1, p. 81 - 88. DOI:

Anderson, A., Hortin, J., Jacobson, A., Britt, D., McLean, J., 2023. Changes in metal-chelating metabolites induced by drought and a root microbiome in wheat. *Plants*, vol. 12, iss. 6, id. 1209, p. 21. DOI : 10.3390/plants12061209

Antoniadis, V., Levizou, E., Shaheen, S., Sik Ok, S., Sebastian, A., Baum, C., Prasad, M., Wenzel, W., Rinklebe, J., 2017. Trace elements in the soil-plant interface: Phytoavailability, translocation, and phytoremediation - A review. *Earth-Science Reviews*, vol. 171, p. 621 - 645. DOI : 10.1016/j.earscirev.2017.06.005

Anyanwu, I., Alo, M., Onyekwere, A., Crosse, J., Nworie, O., Uwa, C., Hossain, M., 2018. Data on heavy metals content and biochar toxicity in a pristine tropical agricultural soil. *Data in Brief*, vol. 18, p. 1064 - 1068. DOI : 10.1016/j.dib.2018.03.123

Arrazola-Vasquez, E., Larsbo, M., Capowiez, Y., Taylor, A., Sandin, M., Iseskog, D., Keller, T., 2022. Earthworm burrowing modes and rates depend on earthworm species and soil mechanical resistance. *Applied Soil Ecology*, vol. 178, id. 104568. DOI: 10.1016/j.apsoil.2022.104568

Aulakh, M., Wassmann, R., Bueno, C., Kreuzwieser, Renneberg, H., 2008. Characterization of root exudates at different growth stages of ten rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Plant Biology*, vol. 3, iss. 2, p. 139 - 148. DOI: 10.1055/s-2001-12905

B

Bailey, V., Pries, C., Lajtha, K., 2019. What do we know about soil carbon destabilization? *Environmental research letters*, vol. 14, iss. 8, p. 1 - 15. DOI: 10.1088/1748-9326/ab2c11

Baker, A., McGrath, S., Reeves, R., Smith, J., 2000. Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. In: Terry, N., Banuelos, G., (eds) *Phytoremediation of contaminated soil and water*. CRC Press, 23 p.. ISBN: 9780367803148

BIBLIOGRAPHIE

Balafrej, H., Bogusz, Triqui, Z., Guedira, A., Bendaou, N., Smouni, A., Fahr, M., 2020. Zinc hyperaccumulation in plants : a review. *Plants*, vol. 9, iss. 5. id. 562. DOI: 10.3390/plants9050562

Barrios, E., 2007. Soil biota, ecosystem services and land productivity. *Ecological Economics*, vol. 64, iss. 2, p. 269 – 285. DOI : 10.1016/j.ecolecon.2007.03.004

Bart, S., Barraud, A., Amossé, J., Péry, A., Mougin, C., 2019. Effects of two common fungicides on the reproduction of *Aporrectodea caliginosa* in natural soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 181, p. 518-524. DOI : 10.1016/j.ecoenv.2019.06.049

Bart, S., Amossé, J., Lowe, C., Mougin, C., Péry, A., 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*, vol. 25, p. 33867-33881. DOI: 10.1007/s11356-018-2579-9

Bart, S., Amossé, J., Pelosi, C., 2016. Les enchytréides : des organismes ingénieurs des sols mal connus. In: Pelosi, C., Mougin, C., Sireyjol, C., (eds) Bulletin de veille du réseau des ecotoxicologues de l'INRA n°23. *INRA*, 44 p.. hal-02795261

Batjes, N., 1996. Total carbon and nitrogen in the soils of the world. *European Journal of Soil Science*, vol. 47, iss. 2, p. 151 - 163. DOI: 10.1111/j.1365-2389.1996.tb01386.x

Bhattacharjee, G., Chaudhuri, P., 2002. Cocoon production, morphology, hatching pattern and fecundity in seven tropical earthworm species - a laboratory-based investigation

Blouin, M., Hodson, M., Delgado, E., Baker, G., Brussaard, L., Butt, K., Dai, J., Dendooven, L., Peres, G., Tondoh, J., Cluzeau, D., Brun, J., 2013. A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. *European Journal of Soil Science*, vol. 64, iss. 2, p. 161 - 182. DOI: 10.1111/ejss.12025

Blum, W., 2005. Functions of soil for society and the environment. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, vol. 4, iss. 3, p. 75 – 79. DOI : 10.1007/s11157-005-2236-x

BIBLIOGRAPHIE

Bolan, N., Choppala, G., Kunhikrishnan, A., Park, J., Naidu, R., 2013. Microbial transformation of trace elements in soils in relation to bioavailability and remediation. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 225, p. 1 - 56. DOI: 10.1007/978-1-4614-6470-9_1

Bolan, N., Adriano, D., Naidu, R., Mora, M., Santiago, M., 2005. Phosphorus-Trace element interactions in soil-plant systems. In: Sims, T., Sharpley, A., (eds) *Phosphorus: Agriculture and the environment*. American Society of Agronomy, p. 317-352. ISBN : 9780891181576

Bottinelli, N., Hallaire, V., Menasseri-Aubry, S., Le Guillou, C., Cluzeau, D., 2010. Abundance and stability of belowground earthworm casts influenced by tillage intensity and depth. *Soil and Tillage Research*, vol. 106, iss. 2, p. 263-267. DOI : 10.1016/j.still.2009.11.005

Bouché, M., 1977. Stratégies Lombriciennes. In : Lohm, U., Persson, T, (eds) *Soil organisms as components of ecosystems: Proceedings of the VI international soil zoology colloquium of the international society of soil science*. Ecological Bulletins Swedish Natural Science Research Council, p. 122 – 132. ISBN: 978-9154602351

Bradl, H., 2004. Adsorption of heavy metal ions on soils and soils constituents. *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 277, iss. 1, p. 1-18. DOI : 10.1016/j.jcis.2004.04.005

Bravin, M., 2008. Processus rhizosphériques déterminant la biodisponibilité du cuivre pour le blé dur cultivé en sols à antécédent viticole. *Ecole doctorale Systèmes Intégrés en Biologie, Agronomies, Géosciences, Hydrosociences et Environnement*, p. 1-237. www.supagro.fr/theses/extranet/08-0021_Bravin.pdf

Briones, M., Ineson, P., 2002. Use of ¹⁴C carbon dating to determine feeding behaviour of enchytraeids. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 34, iss. 6, p. 881 - 884. DOI: 10.1016/S0038-0717(02)00010-X

Brossard, M., Lavelle, P., Laurent, JY., 1996. Digestion of a vertisol by the endogeic earthworm *Polypheretima elongata*, *Megascolecidae*, increases soil phosphate extractibility. *European Journal of Soil Biology*, vol. 32, iss. 2, p. 107 - 111. ISSN : 1164-5563

Brown, G., Edwards, C., Brussaard, L., 2004. How earthworms affect plant growth: burrowing into the mechanisms. In: Edwards, C., (ed), *Earthworm Ecology*. CRC Press LLC, pp. 14 - 37

BIBLIOGRAPHIE

Brunetto, G., Wellington, G., Melo, B., Terzano, R., Del Buono, D., Astolfi, S., Tomasi, N., Pii, Y., Mimmo, T., Cesco, S., 2016. Copper accumulation in vineyard soils: rhizosphere processes and agronomic practices to limit its toxicity. *Chemosphere*, vol. 162, p. 293 - 307. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.07.104

Brussaard, L., de Ruiter, P., Brown, G., 2007. Soil biodiversity for agricultural sustainability. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, vol. 121, iss. 3, p. 233 - 244. DOI: 10.1016/j.agee.2006.12.013

C

Cairns, J., Neiderlehner, B., Smith, E., 1992. The emergence of functional attributes as endpoints in ecotoxicology.

Cairns, J., Pratt, J., 1986. On the relation between structural and functional analyses of ecosystems. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 5, iss. 9, p. 785 - 786. DOI: 10.1002/etc.5620050901

Cao, F., Wang, R., Cheng, W., Zeng, F., Mossaddek Ahmed, I., Hu X., Zhang, G., Wu, F., 2014. Genotypic and environmental variation in cadmium, chromium, lead and copper in rice and approaches for reducing the accumulation. *Science of The Total Environment*, vol. 496, p. 275 - 281. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.07.064

Cedergreen, N., Nørhøve, N., Nielsen, K., Johansson, H., Marcussen, H., Svendsen, C., Spurgeon, D., 2013. Low temperatures enhance the toxicity of copper and cadmium to *Enchytraeus crypticus* through different mechanisms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 32, iss. 10, p. 2274 - 2283. DOI : 10.1002/etc.2274

Chaignon, V., Di Malta, D., Hinsinger, P., 2002. Fe-deficiency increases Cu acquisition by wheat cropped in a Cu-contaminated vineyard soil. *New Phytologist*, vol. 154, iss. 1, p. 121 - 130. DOI: 10.1046/j.1469-8137.2002.00349.x

Chaney, R., Broadhurst, C., Centofanti, T., 2010. Phytoremediation of soil trace elements. In : Hooda, P., (eds) Trace elements in Soils. *Blackwell Publishing Ltd*, p. 409 - 439. ISBN : 9781405160377

BIBLIOGRAPHIE

Chaney, R., 2010. Cadmium and Zinc. In : Hooda, P., (eds) Trace elements in Soils. *Blackwell Publishing Ltd*, p. 409 - 439. ISBN : 9781405160377

Chaney, R., 1989. Toxic element accumulation in soils and crops: protecting soil fertility and agricultural food-chains. In : Bar-Yosef, B., Barrow, N., Goldshmid, J., (eds) Inorganic contaminants in the Vadose zone. *Ecological Studies*, vol. 74, p. 140 - 158. ISBN : 9783642744518

Ciadamidaro, L., Puschenreiter, M., Santner, J., Wenzel, W., Madejón, P., Madejón, E., 2015. Assessment of trace element phytoavailability in compost amended soils using different methodologies. *Journal of Soils and Sediments*, vol. 17, p. 1251 - 1261. DOI: 10.1007/s11368-015-1283-3

Cole, L., Bardgett, R., Ineson, P., Hobbs, P., 2002. Enchytraeid worm (Oligochaeta) influences on microbial community structure, nutrient dynamics and plant growth in blanket peat subjected to warming. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 34, iss. 1, p. 83 - 92. DOI: 10.1016/S0038-0717(01)00159-6

Cole, L., Bardgett, R., Ineson, P., 2001. Enchytraeid worms (oligochaeta) enhance mineralization of carbon in organic upland soils. *European Journal of Soil Science*, vol. 51, iss. 2, p. 185 – 192. DOI : 10.1046/j.1365-2389.2000.00297.x

Coleman, D., Anderson, R., Cole, C., Elliott, E., Woods, L., Champion, M., 1977. Trophic interactions in soils as they affect energy and nutrient dynamic. IV. Flows of metabolic and biomass carbon. *Microbial Ecology*, vol. 4, p. 373 - 380. DOI : 10.1007/BF020013280

Costantini, E., Priori, S., 2023. Soil quality and health key indicators. In: Goss, M., Oliver, M., (eds) Encyclopedia of Soils in the Environment, Second Edition, volume 3. *Academic Press*, p. 146 - 152. ISBN : 978-0-323-95133-3

Curry, J., Schmidt, O., 2007. The feeding ecology of earthworms - a review. *Pedobiologia*, vol. 50, iss. 6, p. 463 - 477. DOI : 10.1016/j.pedobi.2006.09.001

D

BIBLIOGRAPHIE

Dai, J., Becquer, T., Rouiller, J., Reversat, G., Bernhard-Reversat, F., Nahmani, J., Lavelle, P., 2004. Heavy metal accumulation by two earthworm species and its relationship to total and DTPA-extractable metals in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 36, iss. 1, p. 91-98. DOI: 10.1016/j.soilbio.2003.09.001

Dale, V., Kline, K., Wiens, J., Fargione, J., 2010. Biofuels : implications for land use and biodiversity. ESA : Biofuels and Sustainability Reports, p. 15.

Dandan, W., Huixin, L., Feng, H., Xia, W., 2007. Role of earthworm-straw interactions on phytoremediation of Cu contaminated soil by ryegrass. *Acta Ecologica Sinica*, vol. 27, iss. 4, p. 1292 – 1298. DOI: 10.1016/S1872-2032(07)60030-4

Dashko, R., Shudlovskaya, A., 2016. Impact of microbial activity on soil properties. *Canadian Geotechnical Journal*, vol.53, iss. 9, p. 1386 - 1397. DOI: 10.1139/cgj-2015-0649

De Maria, S., Rivelli, A., Kuffner, M., Sessitsch, A., Wenzel, W., Gorfer, M., Strauss, J., Puschenreiter, M., 2011. Interactions between accumulation of trace elements and major nutrients in *Salix caprea* after inoculation with rhizosphere microorganisms. *Chemosphere*, vol. 84, iss. 9, p. 1256 - 1261. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.05.002

Decaëns, T., Rangel, A., Asakawa, N., Thomas, R., 1999. Carbon and nitrogen dynamics in ageing earthworm casts in grasslands of the eastern plains of Colombia. *Biology and Fertility of Soils*, vol. 30, p. 20 - 28. DOI : 10.1007/s003740050582

Degryse, F., Smolders, E., Zhang, H., Davison, W., 2009. Predicting availability of mineral elements to plants with the DGT technique: a review of experimental data and interpretation by modelling. *Environmental Chemistry*, vol. 6, iss. 3, p. 198 - 218. DOI: 10.1071/EN09010

Degtyarev, M., Korobushkin, D., Gongalsky, K., Zaitsev, 2019. Enchytraeid community (annelida, clitellata, enchytraeidae) and its dependence on edaphic conditions in rice agroecosystems in Russia. *Russian Journal of Ecology*, vol. 50, p. 384 - 390. DOI: 10.1134/S1067413619040064

BIBLIOGRAPHIE

Dempsey, M., Fisk, M., Yavitt, J., Fahey, T., Balsler, T., 2013, Exotic earthworms alter soil microbial community composition and function. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 67, p. 263 - 270. DOI: 10.1016/j.soilbio.2013.09.009

Didden, W., Marinissen, J., 1994. Effects of oligochaete worms on soil aggregates and implications for organic matter dynamics. In: Transactions 15th World Congress Soil Science, Vol. 4a: Commission III: Symposia. Acapulco, Mexico - p. 92 - 101.

Didden, W., 1991. Population ecology and functioning of enchytraidae in some arable farming systems. Doctoral thesis, *Agricultural university, Wageningen*, The Netherlands, p. 129. Extrait de : <https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/fulltext/202864>

Didden, W., 1990. Involvement of enchytraeidae (oligochaeta) in soil structure evolution in agricultural fields. *Biology and Fertility of Soils*, vol. 9, iss. 2, p. 152 – 158. DOI : 10.1007/BF00335799

Dijgal, D., Brauman, A., Diop, T., Chotte, J., Villenave, C., 2004. Influence of bacterial-feeding nematodes (*Cephalobidae*) on soil microbial communities during maize growth. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 36, p. 323 - 331. DOI : 10.1016/j.soilbio.2003.10.007

Dominguez, J., Aira, M., Crandall, K., Perez-Losada, M., 2021. Earthworms drastically change fungal and bacterial communities during vermicomposting of sewage sludge. *Scientific Reports*, vol. 11, id 15556. DOI: 10.1038/s41598-021-95099-z

Duchaufour, P., Faivre, P., Poulénard, J., Gury, M., 2018. Chapitre 6 : Complexe absorbant et pH du sol. In: Duchaufour, P., Faivre, P., Poulénard, J., Gury, M., (eds), Introduction à la science du sol. *Dunod*, p. 133 - 148; ISBN : 9782100776566

Drake, H., Horn, M., 2007. As the worm turns: the earthworm gut as a transient habitat for soil microbial biomes. *Annual Review of Microbiology*, vol. 61, p. 169 - 189. DOI : 10.1146/annurev.micro.61.080706.093139

BIBLIOGRAPHIE

E

Eisenhauer, N., Milcu, A., Nitschke, N., Sabais, A., Scherber, C., Scheu, S., 2009. Earthworm and belowground competition effects on plant productivity in a plant diversity gradient. *Oecologia*, vol. 161, p. 291 - 301. DOI: 10.1007/s00442-009-1374-1

Elbser, B., van Eupen, E., Mantel, S., Verzaandvoort, S., Boogaard, H., Mucher, S., Cicarrel, T., Elbsersen, W., Bai, Z., Iqbal, Y., Cossel, M., McCallum, I., Carrasco, J., Ramos, C., Monti, A., Scordia, D., 2017. Deliverable 2.1 Definition and classification of marginal lands for industrial crops in Europe. *Wageningen University*, 62 p.. DOI: 10.5281/zenodo.3539229

Elless, M., Blaylock, M., Huang, J., Gussman, C., 2000. Plants as a natural source of concentrated mineral supplements. *Food Chemistry*, vol. 71, iss. 2, p. 181 - 188. DOI: 10.1016/S0308-8146(00)00142-4

Elser, J., Bracken, M., Cleland, E., Gruner, D., Harpole, W., Hillebrand, H., Ngai, J., Seabloom, E., Shurin, J., Smith, J., 2007. Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems

Elyamine, A., Afzal, J., Rana, M., Imran, M., Cai, M., Hu, C., 2018. Phenanthrene mitigates cadmium toxicity in earthworms *Eisenia fetida* (epigeic specie) and *Aporrectodea caliginosa* (endogeic specie) in soil. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 15, iss. 11, id : 2384. DOI: 10.3390/ijerph15112384

F

Ferlian, O., Eisenhauer, N., Aguirrebengoa, M., Camara, M., Ramirez-Rojas, I., Santos, F., Tanalgo, K., Thakur, M., 2018. Invasive earthworms erode soil biodiversity : A meta-analysis. *Journal of Animal Ecology*, vol. 87, iss. 1, p. 167 - 172. DOI : 10.1111/1365-2656.12746

Frazão, L., Fernandes, L., Olaya, A., Costa de Freitas, I., Soil functions to support natural plant communities and crops: Soil multifunctionality. In: Goss, M., Oliver, M., (eds) *Encyclopedia of Soils in the Environment, Second Edition, volume 3. Academic Press*, p. 146 - 152. ISBN : 978-0-323-95133-3

BIBLIOGRAPHIE

G

Geissen, V., Kim, R., Schöning, A., Schütte, S., Brümmer, G., 2003. Effects of strip wise tillage in combination with liming on chemical and physical properties of acidic spruce forest soils after clear cutting. *Forest Ecology and Management*, vol. 180, iss. 1 - 3, p. 75 - 83. DOI: 10.1016/S0378-1127(02)00601-1

Girard, M., Walter, C., Remy, JC, Berthelin, J., Morel, JL, 2005a. Chapitre 2 : Constituants originaux du sol : réactivité et interactions. In : Girard, M., Walter, C., Remy, JC, Berthelin, J., Morel, JL, (eds), Sols et environnement. *Dunods*, p. 285 - 305. ISBN : 9782100055203

Girard, M., Walter, C., Remy, JC, Berthelin, J., Morel, JL, 2005b. Chapitre 12 : Le sol : ressource en nutriments et biodisponibilité. In : Girard, M., Walter, C., Remy, JC, Berthelin, J., Morel, JL, (eds), Sols et environnement. *Dunods*, p. 285 - 305. ISBN : 9782100055203

Goni, J., Leleu, M., 1980. Traces (Eléments en). *Encyclopedia Universalis*, p. 224-226. ISBN : 9782852292819

Guo, M., Song, W., Buhain, J., 2015. Bioenergy and biofuels: history, status, and perspective. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 42, p. 712 - 725. DOI : 10.1016/j.rser.2014.10.013

H

Harada, H., Hatanaka, T., 1998. Natural background levels of trace elements in wild plants. *Soil Science and Plant Nutrition*, vol. 44, iss. 3, p. 443 - 452. DOI : 10.1080/00380768.1998.10414466

Harmsen, J., 2007. Measuring bioavailability: from a scientific approach to standard methods. *Journal of Environmental Quality*, vol. 36, iss. 5, p. 1420 - 1428. DOI: 10.2134/jeq2006.0492

Hawkes, C., Kivlin, S., Rocca, J., Huguet, V., Thomsen, M., Suttle, K., 2010. Fungal community responses to precipitation.

He, Z., Yang, X., Stoffella, P., 2005. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, vol. 19 iss. 2 - 3, p. 125 - 140. DOI: 10.1016/j.jtemb.2005.02.010

BIBLIOGRAPHIE

Hell, R., Mendel, R., 2010. Cell biology of metals and nutrients. *Springer*, 320 p.. ISBN : 9783642106125

Hendrix, P., Parmelee, R., Crossley, D., Coleman, D., Odum, E., Groffman, P., 1986. Detritus food webs in conventional and no-tillage agroecosystems. *BioScience*, vol. 36, iss. 6, p. 374 - 380. DOI: 10.2307/1310259

Herbien, S., Neal, J., 1990. Soil pH and phosphatase activity. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, vol. 21, iss. 5-6, p. 439-456. DOI: 10.1080/00103629009368244

Hobbs, R., 1994. Can revegetation assist in the conservation of biodiversity in agricultural areas? *Pacific Conservation Biology*, vol. 1, iss. 1, p. 29 -38. DOI: 10.1071/PC930029

Holmstrup, M., 2001. Sensitivity of life history parameters in the earthworm *Aporrectodea caliginosa* to small changes in soil water potential. *Soil Biology & Biochemistry*, vol. 33, p. 1217 - 1223. DOI: 10.1016/s0038-0717(01)00026-8

Hooper, D., Bignell, D., Brown, V., Brussard, L., Dangerfield, J., Wall, D., Wardle, D., Coleman, D., Giller, K., Lavelle, P., van der Putten, W., De Ruiter, P., Rusek, J., Silver, W., Tiedje, J., Wolters, V., 2000. Interactions between aboveground and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems : patterns, mechanisms, and feedbacks : we assess the evidence for correlation between aboveground and belowground diversity and conclude that a variety of mechanisms could lead to positive, negative, or no relationship – depending on the strength and type of interactions among species. *BioScience*, vol. 50, iss. 12, p. 1049 – 1061. DOI : 10.1641/0006-3568(2000)050[1049:IBAABB]2.0.CO;2

Houben, D., Evrard, L., Sonnet, P., 2013. Mobility, bioavailability and pH-dependent leaching of cadmium, zinc et lead in a contaminated soil amended with biochar. *Chemosphere*, vol. 92, iss. 11, p. 1450 - 1457. DOI : 10.1016/j.chemosphere.2013.03.055

Hough, R., 2010. Bioavailability: Exposure, Dose and Risk Assessment. In : Hooda, P., (eds) Trace elements in Soils. *Blackwell Publishing Ltd*, p. 409 - 439. ISBN : 9781405160377

BIBLIOGRAPHIE

Hussain, I., Afzal, S., Ashraf, M., Rasheed, R., Saleem, M., Alatawi, A., Ameen, F., Fahad, S., 2023. Effect of metals or trace elements on wheat growth and its remediation in contaminated soil. *Journal of Plant Growth Regulation*, vol. 42, p. 2258 - 2282. DOI: 10.1007/s00344-022-10700-7

J

Jaramillo, M., Restrepo, I., 2017. Wastewater reuse in agriculture: a review about its limitations and benefits. *Sustainability*, vol. 9, iss. 10, id. 1734. DOI: 10.3390/su9101734

Jiménez-Ballesta, R., Jesús García-Navarro, F., Martín-Consuegra, S., Los Reyes, C., Ortíz-Villajos, J., San Miguel, M., 2018. The impact of the storage of nutrients and other trace elements on the degradation of a wetland. *International Journal of Environmental Research*, vol. 12, p. 87 - 100. DOI: 10.1007/s41742-018-0072-4

Jouni, F., Sanchez-Hernandez, J., Brouchoud, C., Capowiez, Y., Rault, M., 2023. Role of soil texture and earthworm casts on the restoration of soil enzyme activities after exposure to an organophosphorus insecticide. *Applied Soil Ecology*, vol. 187, id. 104840. DOI: 10.1016/j.apsoil.2023.104840

Jouquet, P., Dauber, J., Lagerlöf, J., Lavelle, P., Lepage, M., 2006. Soil invertebrates as ecosystem engineers : intended and accidental effects on soil and feedback loops. *Applied Soil Ecology*, vol. 32, iss. 2, p. 153 – 164. DOI : 10.1016/j.apsoil.2005.07.004

Juma, N., Tabatabai, M., 1977. Effects of trace elements on phosphatase activity in soils. *Soil Science Society of America Journal*, vol. 41, iss. 2, p. 343 - 346. DOI: 10.2136/sssaj1977.03615995004100020034x

K

Kang, S., Post, W., Nichols, J., Wang, D., West, T., Bandaru, V., Izaurralde, R., 2013. Marginal lands : concept, assessment and management. *Journal of Agricultural Science*, vol. 5, iss. 5, p. 129 – 139. DOI : 10.5539/jasv5n5p129

BIBLIOGRAPHIE

Kapusta, P., Sobczyk, Ł., 2015. Effects of heavy metal pollution from mining and smelting on enchytraeid communities under different land management and soil conditions. *Science of The Total Environment*, vol. 536, p. 517–526. DOI:10.1016/j.scitotenv.2015.07.086

Kardol, P., Wardle, D., 2010. How understanding aboveground-belowground linkages can assist restoration ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, vol. 25, iss. 11, p. 670 - 679. DOI: 10.1016/j.tree.2010.09.001

Keesstra, S., Geissen, V., Mosse, K., Piirainen, S., Scudiero, E., Leistra, M., van Schaik, L., 2012. Soil as a filter for groundwater quality. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, vol. 4, iss. 5, p. 507 - 516. DOI : 10.1016/j.cosust.2012.10.007

Kitturmath, M., Giraddi, R., Viraktamah, S., Sattigi, H., 2010. Evaluation of different feeding additives for bio-degradation of groundnut shell and rice husk using earthworm, *Eudrilus eugeniae* (Kingberg). *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, vol. 17, iss. 1.

Kizilkaya, R., Şüheyda, F., 2014. Vermicomposting of anaerobically digested sewage sludge with hazelnut husk and cow manure by earthworm *Eisenia foetida*. *Compost Science & Utilization*, vol. 22, iss. 2, p. 68 - 82. DOI : 10.1080/1065657X.2014.895454

Kroese, J., Batista, P., Jacobs, S., Breuer, L., Quinton, J., Rufino, M., 2020. Agricultural land is the main source of stream sediments after conversion of an African montane forest. *Scientific Reports*, vol. 10, id : 14827. DOI: 10.1038/s41598-020-71924-9

Krzciuk, K., Galuszka, A., 2015. Prospecting for hyperaccumulators of trace elements: a review. *Critical Reviews in Biotechnology*, vol. 35, iss. 4, p. 522 - 532. DOI: 10.3109/07388551.2014.922525

Kumar, S., Sharma, V., Bhojar, R., Bhattacharyya, J., Chakrabarti, T., 2008. Effect of heavy metals on earthworm activities during vermicomposting of municipal solid waste. *Water Environment Research*, vol. 80, iss. 2, p. 154 - 161. DOI: 10.1002/j.1554-7531.2008.tb00339.x

Kunhikrishnan, A., Bolan, N., Naidu, R., Kim, W., 2013. Recycled water sources influence the bioavailability of copper to earthworms. *Journal of Hazardous Materials*, vol. 261, p. 784 - 792. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2012.10.015

BIBLIOGRAPHIE

L

Lamy, I., van Oort, F., Dere, C., Baize, D., 2006. Use of major- and trace-element correlations to assess metal migration in sandy Luvisols irrigated with wastewater. *European Journal of Soil Science*, vol. 57, p. 731 – 740. DOI: 10.1111/j.1365-2389.2005.00765.x

Lang, B., Betancur-Corredor, B., Russell, D., 2023. Soil mineral nitrogen content is increased by soil mesofauna and nematodes - a meta-analysis. *SOIL ORGANISMS*, vol. 95, iss. 2, p. 117 - 128. DOI : 10.25674/so95iss2id310

Lanno, R., Wells, J., Conder, J., Bradham, K., Basta, N., 2004. The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 57, iss. 1, p. 39 - 47. DOI : 10.1016/j.ecoenv.2003.08.014

Laossi, K., Decaëns, T., Jouquet, P., Barot, S., 2010. Can we predict how earthworm effects on plant growth vary with soil properties? *Applied and Environmental Soil Science*, vol. 2010, id. 784342. DOI: 10.1155/2010/784342

Lavelle, P., Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F., Margerie, P., Mora, P., Rossi, J-P, 2006. Soil invertebrates and ecosystem services. *European Journal of Soil Biology*, vol. 42, p. S3 - S15. DOI: 10.1016/j.ejsobi.2006.10.002

Lavelle, P., Spain, A., 2001. *Soil ecology*. Springer Dordrecht, p. 682. ISBN : 978-0792371236

Lavelle, P., 1997. Faunal activities and soil processes: Adaptive strategies that determine ecosystem function

Lebrun, J., Demont-Caulet, N., Cheviron, N., Laval, K., Trinsoutrot-Gattin, I, Mougin, C., 2011. Secretion profiles of fungi as potential tools for metal ecotoxicity assessment: A study of enzymatic system in *Trametes versicolor*. *Chemosphere*, vol. 82, iss. 3, p. 340 - 345

Lindsay, W., 1979. Chemical equilibria in soils. *John Wiley and Sons Ltd.*, 449 p.. ISBN : 9780471027041

Li, L., Jia, Z., Ma, H., Bao, W., Li, X., Tan, H., Xu, F., Xu, H., Li, Y., 2019. The effect of two different biochars on remediation of Cd-contaminated soil and Cd uptake by *Lolium perenne*.

BIBLIOGRAPHIE

Environmental Geochemistry and Health, vol. 41, p. 2067-2080. DOI : 10.1007/s10653-019-00257-y

Liu, C., Duan, C., Meng, X., Yue, M., Zhang, H., Wang, P., Xiao, Y., Hou, Z., Wang, Y., Pan, Y., 2020. Cadmium pollution alters earthworm activity and thus leaf-litter decomposition and soil properties. *Environmental Pollution*, vol. 267. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.115410

Lock, K., Janssen, C., 2001. Zinc and cadmium body burdens in terrestrial oligochaetes: use and significance in environmental risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 20, iss. 9, p. 2067 - 2072. DOI : 10.1002/etc.5620200928

Lock, K., Janssen, C., de Coen, W., 2000. Multivariate test designs to assess the influence of zinc and cadmium bioavailability in soils on the toxicity to *Enchytraeus albidus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 19, iss. 11. p. 2666 - 2671. DOI : 10.1002/etc.5620191108

Lombi, E., Wenzel, W., Gobran, G., Adriano, D., 2000. Dependency of phytoavailability of metals on indigenous and induced rhizosphere processes: a review. In: Gobran, G., Wenzel, W., Lombi, E., (Eds), Trace elements in the rhizosphere. *CRC Press*, p. 22. ISBN : 9780429114625

López-García, Á, Gil-Martínez, M., Navarro-Ferbández, C., Kjøller, R., Azcón-Aguilar, C., Domínguez, M., Marañón, T., 2018. Functional diversity of ectomycorrhizal fungal communities is reduced by trace element contamination. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 121, p. 202 - 211. DOI : 10.1016/j.soilbio.2018.03.021

Lu, L., Chen, C., Ke, T., Wang, M., Sima, M., Huang, S., 2022. Long-term metal pollution shifts microbial functional profiles of nitrification and denitrification in agricultural soils. *Science of The Total Environment*, vol. 830, id. 154732. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.154732

Lux, A., Martinka, M., Vaculik, M., White, P., 2010. Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. *Journal of Experimental Botany*, vol. 62, iss. 1, p. 21 - 37. DOI 10.1093/jxb/erq281

BIBLIOGRAPHIE

M

Ma, Y., Dickinson, N., Wong, M., 2003. Interactions between earthworms, trees, soil nutrition and metal mobility in amended Pb/Zn mine tailings from Guangdong, China. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 35, iss. 10, p. 1369-1379. DOI: 10.1016/S0038-0717(03)00216-5

Ma, Y., Dickinson, N., Wong, M., 2002. Toxicity of Pb/Zn mine tailings to the earthworm *Pheretima* and the effects of burrowing on metal availability. *Biology and Fertility of Soils*, vol. 36, p. 79-86. DOI : 10.1007/s00374-002-0506-0

Ma, W., 1984. Sublethal toxic effects of copper on growth, reproduction and litter breakdown activity in the earthworm *Lumbricus rubellus*, with observations on the influence of temperature and soil pH. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*, vol. 33, iss. 3, p. 207 - 219. DOI: 10.1016/0143-1471(84)90011-4

Marashi, A., Scullion, J., 2003. Earthworm casts form stable aggregates in physically degraded soils. *Biology and Fertility of Soils*, vol. 37, p. 375-380. DOI : 10.1007/s00374-003-0617-2

Marastoni, L., Tauber, P., Pii, Y., Valentinuzzi, F., Astolfi, S., Simoni, A., Brunetto, G., Cesco, S., Mimmo, T., 2019. The potential of two different *Avena sativa* L. cultivars to alleviate Cu toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 182, id. 109430. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.109430

Mattigod, S., Sposito, G., Page, A., 1981. Factors affecting the solubilities of trace metals in soils. In : Dowdy, R., Ryan, J., Volk, V., Baker, D., (eds) *Chemistry in soil environment*, volume 40. *the American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Inc.*, p. 203 - 221. ISBN : 9780891180654

McBride, M., Sauvé, S., Hendershot, W., 2005. Solubility control of Cu, Zn, Cd and Pb in contaminated soils. *European Journal of Soil Science*, vol. 48, iss. 2, p. 337 – 346. DOI : 10.1111/j.1365-2389.1997.tb00554.x

Miliauskas, G., Venskutonis, P., van Beek, T., 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, vol. 5, iss. 2, p. 231 - 237. DOI: 10.1016/j.foddchem.2003.05.007

BIBLIOGRAPHIE

Mimmo, T., Pii, Y., Valentinuzzi, F., Astolfi, S., Lehto, N., Robinson, B., Brunetto, G., Terzano, R., Cesco, S., 2018. Nutrient availability in the rhizosphere : a review. *Acta Horticulturae*, vol. 1217, p. 13-28. DOI : 10.17660/ActaHortic.2018.1217.2

Morgan, J., Morgan, A., 1999. The accumulation of metals (Cd, Cu, Pb, Zn and Ca) by two ecologically contrasting earthworm species (*Lumbricus rubellus* and *Aporrectodea caliginosa*): implications for ecotoxicological testing. *Applied Soil Ecology*, vol. 13, iss. 1, p. 9 - 20. DOI: 10.1016/S0929-1393(99)00012-8

Morgan, J., Morgan, J., 1993. Seasonal changes in the tissue-metal (Cd, Zn and Pb) concentrations in two ecophysiologicaly dissimilar earthworm species: pollution-monitoring implications. *Environmental Pollution*, vol. 82, iss. 1, p. 1-7. DOI: 10.1016/0269-7491(93)90155-H

Mourier, B., Fritsch, C., Dhivert, E., Gimbert, F., Coeurdassier, M., Pauget, B., de Vaufleury, A., Scheifler, R., 2011. Chemical extractions and predicted free ion activities fail to estimate metal transfer from soil to field land snails. Vol. 85, iss. 6, p. 1057 - 1065. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.07.035

Mulder, C., Boit, A., Bonkowski, M., De Ruiter, P., Mancinelli, G., Van der Heijden, M., Van Wiknen, H., Vonk, J., Rutgers, M., 2011. A belowground perspective on dutch agroecosystems: How soil organisms interact to support ecosystem services. *Advances in Ecological Research*, vol. 44, p. 277 - 357. DOI: 10.1016/B978-0-12-374794-5.00005-5

N

Nahmani, J., Lavelle, P., Lapied, E., van Oort, F., 2003. Effects of heavy metal soil pollution on earthworm communities in the north of France : The 7th ubterbatuibaik symposium on earthworm ecology . Cardif . Wales . 2002 *Pedobiologia*, vol. 47, iss. 5 – 6, p. 663 – 669. DOI : 10.1078/0031-4056-00243

Neina, D., 2019. The role of soil pH in plant nutrition and soil remediation. *Applied and Environmental Soil Science*, vol. 2019, id. 5794869. DOI: 10.1155/2019/5794869

Neumann, G., Romheld, V., 2000. The release of root exudates as affected by the plant's physiological status

BIBLIOGRAPHIE

P

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*, vol. 2013, id. 158764, p. 11. DOI : 10.1155/2013/158764

Paoletti, M., Sommaggio, D., Favretto, M., Petruzzelli, G., Pezzarossa, B., Barbafieri, M., 1998. Earthworms as useful bioindicators of agroecosystem sustainability in orchards and vineyards with different inputs. *Applied Soil Ecology*, vol. 10, iss. 1 - 2, p. 137 - 150. DOI : 10.1016/S0929-1393(98)00036-5

Parkin, T., Berry, E., 1999. Microbial nitrogen transformations in earthworm burrows. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 31, iss. 13, p. 1765 - 1771. DOI: 10.1016/S0038-0717(99)00085-1

Parle, J., 1963. A microbiological study of earthworm casts. *Microbiology*, vol. 31, iss. 1, 13-22. DOI : 10.1099/00221287-31-1-13

Pelosi, C., Römbke, J., 2016. Are *Enchytraeidae* (Oligochaeta, Annelida) good indicators of agricultural management practices? *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 100, p. 255 - 263. DOI : 10.1016/j.soilbio.2016.06.030

Pelletier, E, Campbelle, P., 2008. Aquatic ecotoxicology - comparaison between organic micropollutants and metals: current situation and future perspectives. *Journal of Water Science*, vol. 21, iss. 2, p. 173 - 197. DOI: 10.7202/018465ar

Pérez-Reverón, R., González-Sálamo, J., Hernández-Sánchez, C., González-Pleiter, M., Hernández-Borges, J., Díaz-Peña, F., 2022. Recycled wastewater as a potential source of microplastics in irrigated soils from an arid-insular territory (Fuerteventura, Spain). *Science of The Total Environment*, vol. 817, id 152830. DOI : 10.1016/j.scitotenv.2021.152830

Pernet-coudrier, B., Clouzot, L., Varrault, G., Tusseau-vuillemin, M., Verger, A., Mouchel, J., 2008. Dissolved organic matter from treated effluent of a major wastewater treatment plant: Characterization and influence on copper toxicity. *Chemosphere*, vol. 73, iss. 4, p. 593 - 599. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.05.064

BIBLIOGRAPHIE

Pitkänen, J., Nuutinen, V., 1997. Distribution and abundance of burrows formed by *Lumbricus terrestris* L. and *Aporrectodea caliginosa* Sav. in the soil profile. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 29, iss. 3 – 4, p. 463 – 467. DOI: 10.1016/S0038-0717(96)00040-5

Plante, A., 2007. 15 - Soil biogeochemical cycling of inorganic nutrients and metals. In : Paul, E., (eds), *Soil microbiology, ecology and biochemistry*. Elsevier Inc. Academic Press, p. 389 - 432. ISBN : 9780125468077

Plassard, C., Robin, A., Le Cadre, E., Marsden, C., Trap, J., Hermann, L., Waithaisong, K., Lesueur, D., Blanchart, E., Chapuis-Lardy, L., Hinsinger, P., 2015. Améliorer la biodisponibilité du phosphore : comment valoriser les compétences des plantes et les mécanismes biologiques du sol? *Innovations Agronomiques*, vol. 43, p. 115 - 138. DOI :

Plum, N., Filser, J., 2008. Worms and wetland water : The role of lumbricids and enchytraids in nutrient mobilization from flooded soils. *Peckiana*, vol. 5, p. 53 - 64. ISSN : 1618-1735

Postma-Blaauw, M., Bloem, J., Faber, J., van Groenigen, J., de Goede, R., Brussaard, L., 2006. Earthworm species composition affected the soil bacterial community and net nitrogen mineralization. *Pedobiologia*, vol. 50, iss. 3, p. 243 - 256. DOI: 10.1016/j.pedobi.2006.02.001

R

Raguž, V., Jarsjö, J., Grolander, S., Lindborg, R., Avila, R., 2013. Plant uptake of elements in soil and pore water: Field observations versus model assumptions. *Journal of Environmental Management*, vol. 126, p. 147-156. DOI :10.1016/j.jenvman.2013.03.055

Regelink, I., Koopmans, G., Effects of Biostimulants and Fertilization on Nutrient Uptake by Grass and Composition of Soil Pore Water Versus 0.01 M CaCl₂ Soil Extracts. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, vol. 52, iss. 20, p. 2516 - 2531. DOI : 10.1080/00103624.2021.1953051

Reynoldson, T., 1943. A comparative account of the life cycles of *Lumbricus lineatus* Mull. and *Enchytraeus albidus* Henle in relation to temperature. *Annals of Applied Biology*, vol. 30, iss. 1, p. 60 – 66. DOI: 10.1111/j.1744-7348.1943.tb06155.x

BIBLIOGRAPHIE

Rhee, J., 1977. Effects of soil pollution on earthworms. *Pedobiologia*, vol. 17, iss. 3, p. 201 - 208. DOI: 10.1016/S0031-4056(23)00171-3

Richardson, A., Simpson, R., 2011. Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. *Plant Physiology*, vol. 156, iss. 3, p. 989 - 996. DOI : 10.1104/pp.111.175448

Richardson, A., 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants

Rizwan, M., Ali, S., Hussain, A., Ali, Q., Bilal Shakoor, M., Zia-ur-Rehman, M., Farid, M., Asma, M., 2017. Effect of zinc-lysine on growth, yield and cadmium uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.) and health risk assessment. *Chemosphere*, vol. 187, p. 35 - 42. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.08.071

Römbke, J., Moser, T., 2002. Validating the enchytraeid reproduction test : organisation and results of an international ringtest. *Chemosphere*, vol. 46, iss. 7, p. 1117 – 1140. DOI : 10.1016 :s0045-6535(01)00113-8

S

Salmien, J., Hernesmaa, A., Karjalainen, H., Fritze, H., Romantschuk, M., 2009. Activity of nematodes and enchytraeids, bacterial community composition, and functional redundancy in coniferous forest soil. *Biology and Fertility of Soils*, vol. 46, p. 113 - 126. DOI: 10.1007/s00374-009-0409-4

Sandor, M., Schrader, S., 2011. Interaction of earthworms and enchytraeids in organically amended soil. *North-Western Journal of Zoology*, vol. 8, iss. 1, p. 46 - 56.

Santner, J., Prohaska, T., Luo, J., Zhang, H., 2010. Ferrihydrite containing gel for chemical imaging of labile phosphate species in sediments and soils using diffusive gradients in thin films. *Analytical Chemistry*, vol. 82, iss. 18, p. 7668 – 7674. DOI : 10.1021/ac101450j

BIBLIOGRAPHIE

Santos, F., van Gestel, C., Amorim, M., 2021. Toxicokinetics of copper and cadmium in the soil model *Enchytraeus crypticus* (Oligochaeta). *Chemosphere*, vol. 270, id. 129433. DOI : 10.1016/j.chemosphere.2020.129433

Sarma, H., 2011. Metal hyperaccumulation in plants: a review focusing on phytoremediation technology. *Journal of Environmental Science and Technology*, vol. 4, iss. 2, p. 118 - 138. DOI : 10.3923/jest.2011.118.138

Sauvé, S., Hendershot, W., Allen, H., 2000. Solid-Solution Partitioning of Metals in Contaminated Soils: Dependence on pH, Total Metal Burden, and Organic Matter. *Environmental Science & Technology*, vol. 34, iss. 7, p. 1125 - 1131. DOI: 10.1021/es9907764

Sauvé, S., McBride, M., Norvell, W., Hendershot, W., 1997. Copper solubility and speciation of in situ contaminated soils: effects of copper level, pH and organic matter. *Water, Air, and Soil Pollution*, vol. 100, p. 133 - 149. DOI: 10.1023/A:1018312109677

Scheu, S., 2003. Effects of earthworms on plant growth: patterns and perspectives: the 7th international symposium on earthworm ecology · Cardiff · Wales · 2002. *Pedobiologia*, vol. 47, iss. 5-6, p. 846 - 856. DOI : 10.1078/0031-4056-00270

Schi, M., Fisher, J., Brzostek, E., Phillips, R., 2015. Carbon cost of plant nitrogen acquisition: global carbon cycle impact from an improved plant nitrogen cycle in the community land model. *Global Change Biology*, vol. 22, iss. 3, p. 1299 - 1314. DOI : 10.1111/gcb.13131

Schlesinger, W., Bernhardt, E., 2020. Chapter 12 - The global cycles of nitrogen, phosphorus and potassium. In: Schlesinger, W., Bernhardt, E., (eds) *Biogeochemistry: an analysis of global change*, fourth edition. Elsevier Inc. Academic Press, p. 483 - 508. ISBN: 9780128146088

Schröder, P., Beckers, B., Daniels, S., Gnädinger, F., Maestri, E., Marmiroli, N., Mench, M., Millan, R., Obermeier, M., Oustriere, N., Persson, T., Poschenrieder, C., Rineau, F., Rutkowska, B., Schmid, T., Szulc, W., Witters, N., Sæbø, A., 2018. Intensify production, transform biomass to energy and novel goods and protect soils in Europe—A vision how to mobilize marginal lands. *Science of The Total Environment*, vol. 616 - 617, p. 1101 - 1123. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.209

BIBLIOGRAPHIE

Seeber, J., Seeber, G., Langel, R., Scheu, S., Meyer, E., 2008. The effect of macro-invertebrates and plant litter of different quality on the release of N from litter to plant on alpine pastureland. *Biology and Fertility of Soils*, vol. 44, p. 783 - 790. DOI: 10.1007/s00374-008-0282-6

Shenker, M., Fan, T., Crowley, D., 2001. Phytosiderophores influence on cadmium mobilization and uptake by wheat and barley plants. *Journal of Environmental Quality*, vol. 30, iss. 6, p. 2091 - 2098. DOI: 10.2134/jeq2001.2091

Sheppard, S., Sheppard, M., Gaudet, C., Cureton, P., Wong, M., 1992. The development of assessment and remediation guidelines for contaminated soils, a review of the science. *Canadian Journal of Soil Science*, vol. 72, iss. 4, p. 359 - 394. DOI: 10.4141/cjss92-032

Shukla, U., Singh, J., Joshi, P., Kakkar, P., 2002. Effect of bioaccumulation of cadmium on biomass productivity, essential trace elements, chlorophyll biosynthesis, and macromolecules of wheat seedlings. *Biological Trace Element Research*, vol. 92, p. 257 - 273. DOI : 10.1385/bter:92:3:257

Simkiss, K., Biol, F., 1979. Metal ions in cells. *Endeavour*, vol. 3, iss. 1, p. 2-6. DOI : 10.1016/0160-9327(79)90003-6

Singh; S., Singh, J., Vig, A., 2016. Earthworm as ecological engineers to change the physico-chemical properties of soil: Soil vs vermicast. *Ecological Engineering*, vol. 90, p. 1 - 5. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2016.01.072

Sivakumar, S., 2015. Effects of metals on earthworm life cycles: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, vol. 187, id. 530. DOI: 10.1007/s10661-015-4742-9

Sizmur, T., Richardson, J., 2020. Earthworms accelerate the biogeochemical cycling of potentially toxic elements: Results of a meta-analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, id. 107865. DOI: 10.1016/j.soilbio.2020.107865

Sizmur, T., Hodson, M., 2009. Do earthworms impact metal mobility and availability in soil ? – A review. *Environmental Pollution*, vol. 157, iss. 7, p. 1981 – 1989. DOI : 10.1016/j.envpol.2009.02.029

BIBLIOGRAPHIE

Smeets, E., Lewandowski, I., Faaij, A., 2009. The economical and environmental performance of miscanthus and switchgrass production and supply chains in a European setting. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 13, iss. 6 – 7, p. 1230 – 1245. DOI : 10.1016/j.rser.2008.09.006

Smil, V., 2000. Phosphorus in the environment : natural flows and human interferences. *Annual Review of Energy and the Environment*, vol. 25, iss. 1, p. 53 - 88. DOI : 10.1146/annurev.energy.25.1.53

Spurgeon, D., Hopkin, S., 1996a. The effects of metal contamination on earthworm populations around a smelting works: quantifying species effects. *Applied Soil Ecology*, vol. 4, iss. 2, p. 147 - 160. DOI: 10.1016/0929-1393(96)00109-6

Spurgeon, D., Hopkin, S., 1996b. Effects of metal-contaminated soils on the growth, sexual development, and early cocoon production of the earthworm *Eisenia fetida*, with particular reference to zinc. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 35, iss. 1, p. 86-95. DOI : 10.1006/eesa.1996.0085

Standen, V., 1984. Earthworms and plants in fertilized hay meadow plots. *Journal of Applied Ecology*, vol. 21, iss. 1, p. 293 - 312. DOI : 10.2307/2403055

Standen, V., 1978. The influence of soil fauna on decomposition by micro-organisms in blanket bog litter. *Journal of Animal Ecology*, vol. 47, iss. 1, p. 25 – 38. DOI : 10.2307/3920

Strobel, B., Borggaard, O., Hansen, H., Andersen, M., Raulund-Rasmussen, K., 2005. Dissolved organic carbon and decreasing pH mobilize cadmium and copper in soil. *European Journal of Soil Science*, vol. 56, iss. 2, p. 189 - 196. DOI: 10.1111/j.1365-2389.2004.00661.x

Stuiver, C., Posthumus, F., Parmar, S., Shahbaz, M., Hawkesford, M., De Kok, L., 2014. Zinc exposure has differential effects on uptake and metabolism of sulfure and nitrogen in Chinese cabbage. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, vol. 177, iss. 5, p. 748 - 757. DOI: 10.1002/jpln.201300369

Suarez, E., Pelletier, D., Fahey, T., Groffman, P., Bohlen, P., Fisk, M., 2004. Effects of exotic earthworms on soil phosphorus cycling in two broadleaf temperate forests. *Ecosystems*, vol. 7, iss. 1, p. 2 - 44. JSTOR: stable/3658839

BIBLIOGRAPHIE

Suthar, S., Singh, S., Dhawan, S., 2008. Earthworms as bioindicator of metals (Zn, Fe, Mn, Cu, Pb and Cd) in soils: is metal bioaccumulation affected by their ecological category? *Ecological Engineering*, vol. 32, iss. 2, p. 99 - 107. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2007.10.003

T

Tandy, S., Mundus, S., Yngvesson, J., de Bang, T., Lombi, E., Schjoerring, J. Husted, S., 2011. The use of DGT for prediction of plant available copper, zinc and phosphorus in agricultural soils. *Plant and Soil*, vol. 346, p. 167 - 180. DOI: 10.1007/s11104-011-0806-y

Topoliantz, S., Ponge, J-F., Viaux, P., 2000. Earthworm and enchytraeid activity under different arable farming systems, as exemplified by biogenic structures. *Plant and Soil*, vol. 225, p. 39 - 51. DOI: 10.1023/A:1026537632468

Toth, G., Hermann, T., Szatmári, G, Pásztor, L., 2016. Maps of heavy metals in the soils of the European Union and proposed priority areas for detailed assessment. *Science of The Total Environment*, vol. 565, p. 1054 – 1062. DOI : 10.1016/j.scitotenv.2016.05.115

Touceda-González, M., Prieto-Fernández, Á., Renella, G., Giagnoni, L., Sessitch, A., Brader, G., Kumpiene, J., Dimitriou, I., Eriksson, J., Friesl-Hanl, W., Galazka, R., Janssen, J., Mench, M., Müller, I., Neu, S., Puschenreiter, M., Siebielec, G., Vangronsveld, J., Kidd, P., 2017. Microbial community structure and activity in trace element-contaminated soils phytomanaged by Gentle Remediation Options (GRO). *Environmental Pollution*, vol. 231, iss. 1, p. 237 – 251. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.07.097van

Turbé, A., de Toni, A., Benito, P., Lavelle, P., Lavelle, P., Camacho, N., van Der Putten, W., Labouze, E., Mudgal, S., 2010. Soil biodiversity: functions, threats and tools for policy makers. *Report for European Commission (DG Environment), Brussels, Belgium*, 250 p. HAL Id : bioemco-00560420

U

Udovic, M., Lestan, D., 2007. The effect of earthworms on the fractionation and bioavailability of heavy metals before and after soil remediation. *Environmental Pollution*, vol. 148, iss. 2, p. 663 - 668. DOI: 10.1016/j.envpol.2006.11.010

BIBLIOGRAPHIE

V

van Groenigen, J., van Groenigen, K., Koopmans, G., Stokkermans, L., Vos, H., Lubbers, I., 2019. How fertile are earthworms casts? A meta-analysis. *Geoderma*, vol. 338, iss. 15, p. 525 - 535. DOI : 10.1016/j.geoderma.2018.11.001

van Groenigen, J., Lubbers, I., Vos, H., Brown, G., De Deyn, G., van Groenigen, K., 2014. Earthworms increase plant production: a meta-analysis. *Scientific Reports*, vol. 4, id. 6365, p. 7. DOI : 10.1038/srep06365

van Vliet, P., Beare, M., Coleman, D., Hendrix, P., 2004. Effects of enchytraeids (Annelida: Oligochaeta) on soil carbon and nitrogen dynamics in laboratory incubations. *Applied Soil Ecology*, vol. 25, iss. 2, p. 147 - 160. DOI : 10.1016/j.apsoil.2003.08.004

van Vliet, P., West, L., Hendrix, P., Coleman, D., 1993. The influence of Enchytraidae (*Oligochaeta*) on the soil porosity of small microcosms. In: Brussaard, L., Kooistra, M., (eds) Soil Structure/Soil Biota Interrelationships : International workshop on methods of research on soil structure/soil biota interrelationship, held at the international agricultural centre, Wageningen, The Netherlands, 24 - 28 November 1991. *Elsevier Science*, p. 287 - 299. ISBN: 9780444814906

van Zwieten, L., Rust, J., Kingston, T., Merrington, G., Morris, S., 2004. Influence of copper fungicide residue on occurrence of earthworms in avocado orchard soils. *Science of The Total Environment*, vol. 329, iss. 1 - 3, p. 29 - 41. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2004.02.014

Vandecasteele, B., Samyn, J., Quataert, P., Muys, B., Tack, F., 2004. Earthworm biomass as additional information for risk assessment of heavy metal biomagnification: a case study for dredged sediment-derived soils and polluted floodplain soils. *Environmental Pollution*, vol. 129, iss. 3, p. 363 - 375. DOI:10.1016/j.envpol.2003.12.007

Vasseur, P., Bonnard, M., 2014. Ecogeneticology in earthworms: A review. *Current Zoology*, vol. 60, iss. 2, p. 255-272. DOI: 10.1093/czoolo/60.2.255

Vijver, M., Vink, J., Miermans, C., van Gestel, C., 2003. Oral sealing using glue : a new method to distinguish between intestinal and dermal uptake of metals in earthworms. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 35, iss. 1, p. 125 - 132. DOI: 10.1016/S0038-0717(02)00245-6

BIBLIOGRAPHIE

Vos, H., Hiemstra, T., Lopez, M., van Groenigen, J., Voegeli, A., Mangold, S., Koopmans, G., 2022. Earthworms affect reactive surface area and thereby phosphate solubility in iron-(hydr)oxide dominated soils. *Geoderma*, vol. 428, id. 116212. DOI: 10.1016/j.geoderma.2022.116212

Vos, H., Ros, M., Koopmans, G., van Groenigen, J., 2014. Do earthworms affect phosphorus availability to grass? A pot experiment. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 79, p. 34 - 42. DOI : 10.1016/j.soilbio.2014.08.018

W

Wan, Y., Camara, A., Yu, Y., Wang, Q., Guo, T., Zhu, L., Li, H., 2018. Cadmium dynamics in soil pore water and uptake by rice: Influences of soil-applied with different water managements. *Environmental Pollution*, vol. 240, p. 523-533. DOI : 10.1016/j.envpol.2018.04.044

Wardle, D., Peltzer, D., 2007. Aboveground-belowground linkages, ecosystem development, and ecosystem restoration. In: Walker, L., Walker, J., Hobbs, R., (eds) Linking restoration and ecological succession. *Springer Series on Environmental Management*, p. 45 – 68. ISBN : 978-0387353029

Watson, C., Gardner, M., Hodgson, R., Liddicoat, C., Peddle, S., Breed, M., 2022. Global meta-analysis shows progress towards recovery of soil microbiota following revegetation. *Biological Conservation*, vol. 272, id. 109592. DOI: 10.1016/j.biocon.2022.109592

Wen, B., Hu, X., Liu, Y., Wang, W., Feng, M., Shan, X., 2004. The role of earthworms (*Eisenia fetida*) in influencing bioavailability of heavy metals in soils. *Biology and Fertility of Soils*, vol. 40, p. 181-187. DOI : 10.1007/s00374-004-0761-3

X

Xing, B., Jin, R., 2018. Inhibitory effects of heavy metals and antibiotics on nitrifying bacterial activities in mature partial nitrification. *Chemosphere*, vol. 200, p. 437 - 445. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.02.132

BIBLIOGRAPHIE

Xue, R., Wang, C., Liu, X., Liu, M., 2022. Earthworm regulation of nitrogen pools and dynamics and marker genes of nitrogen cycling: A meta-analysis. *Pedosphere*, vol. 32, iss. 1 p. 131 - 139. DOI: 10.1016/S1002-0160(21)60063-2

Y

Ye, X., Li, H., Ma, Y., Wu, L., Sun, B., 2014. The bioaccumulation of Cd in rice grains in paddy soils as affected and predicted by soil properties. *Journal of Soils and Sediments*, vol. 14. p. 1407 - 1416. DOI: 10.1007/s11368-014-0901-9

York, L., Carminati, A., Monney, S., Ritz, K., Bennett, M., 2016. The holistic rhizosphere: integrating zones, processes, and semantics in the soil influenced by roots. *Journal of Experimental Botany*, vol. 67, iss. 12, p. 3629-3643. DOI : 10.1093/jxb/erw108

Z

Zegada-Lizarazu, W., Elbersen, H., Cosentino, S., Ztta, A., Alexopoulou, E., Monti, A., 2010. Agronomic aspects of future energy crops in Europe. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, vol. 4, iss. 6, p. 674 – 691. DOI : 10.1002/bbb.242

Zhang, L., Van Gestel, C., Li, Z., 2022. Toxicokinetics of metals in the soil invertebrate *Enchytraeus crypticus* exposed to field-contaminated soils from a mining area. *Environmental Pollution*, vol. 300, id. 118874. DOI : 10.1016/j.envpol.2022.118874

Zhang, C., Langlest, R., Velasquez, E., Pando, A., Brunet, D., Lavelle, P., 2009. Cast production and NIR spectral signatures of *Aporrectodea caliginosa* fed soil with different amounts of half-decomposed *Populus nigra* litter. *Biology and Fertility of Soils*, vol. 45, p. 839 – 844. DOI: 10.1007/s00374-009-0395-6

Zhang, H., Yang, X., Du, J., Wu, Y., 2008. Influence of soil temperature and moisture on the cocoon production and hatching of the exotic earthworm *Pontoscolex corethrurus*. *Zoological Research*, vol. 29, iss. 3, 2008, p. 305-312. ISSN: 2095-8137

BIBLIOGRAPHIE

Zhao, H., Guan, J., Liang, Q., Zhang, X., Hu, H., Zhang, J., 2021. Effects of cadmium stress on growth and physiological characteristics of sassafras seedlings. *Scientific Reports*, vol. 11, id. 9913. DOI : 10.1038/s41598-021-89322-0

Zimmer, D., Baum, C., Leinweber, P., Hryniewicz, K., Meissner, R., 2009. Associated bacteria increase the phytoextraction of cadmium and zinc from a metal-contaminated soil by mycorrhizal willows. *International Journal of Phytoremediation*, vol. 11, iss. 2, p. 200 - 213. DOI: 10.1080/15226510802378483

Zimmermann, J., Dauber, J., Jones, M., 2012. Soil carbon sequestration during the establishment phase of *Miscanthus x giganteus* : a regional-scale study on commercial farms using ¹³C natural abundance. *GCB Bioenergy*, vol. 4, iss. 4, p. 453 – 461. DOI : 10.1111/j.1757-1707.2011.01117.x