



HAL
open science

Impact des taillis à très courte rotation de saules sur les propriétés fonctionnelles des sols et définition d'indicateurs de qualité

Marie Stauffer

► To cite this version:

Marie Stauffer. Impact des taillis à très courte rotation de saules sur les propriétés fonctionnelles des sols et définition d'indicateurs de qualité. Science des sols. Université de Lorraine, 2014. Français. NNT: 2014LORR0030 . tel-01750687

HAL Id: tel-01750687

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01750687>

Submitted on 29 Mar 2018

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.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



THESE
Présentée pour l'obtention du titre de

Docteur en Géosciences

de l'Université de Lorraine
Ecole doctorale Ressources Procédés Produits Environnement (RP2E)
Collegium Sciences et Technologies

Par Marie STAUFFER

**IMPACT DES TAILLIS A TRÈS COURTE
ROTATION DE SAULES SUR LES PROPRIETES
FONCTIONNELLES DES SOLS ET DÉFINITION
D'INDICATEURS DE QUALITÉ.**

Soutenance publique prévue le 02/04/2014, devant le jury

Sabine HOUOT, Directrice de Recherche, INRA, Versailles-Grignon

Rapporteur

Françoise BINET, Directrice de Recherche, CNRS, Université Rennes 1

Rapporteur

Corinne LEYVAL, Directrice de Recherche, CNRS, Université de Lorraine

Directrice de thèse

Jacques BERTHELIN, Directeur de Recherche, CNRS, Université de Lorraine

Co-directeur de thèse

Jean-Jacques BRUN, Directeur de Recherche, IRSTEA, Grenoble

Co-directeur de thèse

Jean-Charles MUNCH, Professeur, Helmholtz Zentrum, München

Examineur

Antonio BISPO, Ingénieur de Recherche, ADEME, Angers

Invité

Pascale LEPORTIER, Responsable R&D, Kinomé

Invité



**Laboratoire Interdisciplinaire
des Environnement
Continentaux**
UMR 7360
CNRS-Université de Lorraine



**Institut national de recherche
en sciences et technologies
pour l'environnement et
l'agriculture**
UM EMGR- Grenoble

Remerciements

Je remercie vivement les deux rapporteurs de cette thèse **Sabine Houot et Françoise Binet**, pour leurs rapports constructifs et les discussions intéressantes qu'elles ont suscitées lors de la soutenance. Je remercie également **Jean-Charles Munch**, examinateur, d'avoir accepté de juger ce travail. J'ai également été très sensible à la présence d'**Antonio Bispo**, que je remercie pour avoir suivi ce projet de recherche dès son commencement et avoir permis le financement des travaux par l'ADEME.

Je tiens à adresser une reconnaissance particulière à **Corinne Leyval**, qui a dirigé ce travail de recherche. Je la remercie pour m'avoir fait confiance et pour m'avoir encadrée avec une efficacité incroyable : Merci pour tous ses précieux et pertinents commentaires qui ont conditionné la réussite de ce travail.

Un grand merci à **Jacques Berthelin**, co-directeur de cette thèse, qui m'a guidée à sa manière, optimiste, encourageante en me laissant une grande autonomie et une liberté d'action dans chaque étape de ce travail. J'adresse également mes remerciements à **Jean-Jacques Brun**, pour son accueil chaleureux à Grenoble, et pour nos échanges enrichissants. Je remercie également **François Toutain**, pour son aide et pour son goût du terrain qu'il m'a parfaitement communiqués et aussi pour ses anecdotes qui m'ont permis de rire et de m'évader le temps d'un instant.

Un immense merci à **l'équipe étendue de Kinomé** !...Nicolas, Damien, Laure, Yohann, Nathalie, Valérie avec une mention toute particulière à Pascale pour son suivi humain et rigoureux et à Cindy pour sa générosité, ses attentions et ses messages qui m'ont réconfortée! Merci de relever cet ambitieux défi et de placer l'arbre au cœur de la vie partout dans le monde et même à Paris.

Je veux adresser ma profonde reconnaissance à **Antoine Dalle**, fondateur de Salix Energie qui a pris le temps de m'emmener sur l'ensemble des TTCR de la vallée de l'Aisne. Il a guidé mes choix et son 4x4 a été précieux pour m'aider à sortir des chemins des Ardennes, pas du tout boueux... Je remercie également, **Yohann Rateau**, technicien de Luzéal et **Florent Germon**, gestionnaire du site de Pauvre (Luzéal) pour les données qu'ils m'ont gracieusement communiquées.

Ce travail n'aurait évidemment pas été possible sans l'accord des quatre agriculteurs, **Gérald Gaillot, Philippe Yverneau, Daniel Guerin et Philippe Lucas** que je remercie car ils ont toujours répondu avec entrain à toutes mes questions !

Sans être directement impliquées dans ce projet, plusieurs personnes y ont apporté des contributions ~~très importantes~~ significatives ! Merci à **Lauric Cécillon** pour son flot intarissable d'idées, pour les pistes très intéressantes qu'il m'a suggérées, pour la pertinence de ses conseils et pour toute la passion qu'il sait transmettre. Merci également à **Sébastien De**

Danieli, pour m'avoir appris à identifier les vers de terre ! J'ai été très touchée par l'aide de **Jacques Ranger** : je tiens à le remercier très sincèrement pour sa gentillesse, son humilité et la disponibilité dont il a toujours fait preuve à mon égard. Un grand merci pour ses apports constructifs à ce travail. Je remercie également **Jérôme Cortet** pour la réalisation des PRC et le temps qu'il m'a accordé et **Jean-Robert Disnar** pour avoir réalisé les analyses Rock-Eval. Je n'oublie pas **Anaïs Saenger**, pour son aide cruciale dans le traitement des données Rock-Eval.

Un immense merci à tous les personnels du LIMOS, et du LIEC-site aiguillette, les anciens et les nouveaux qui ont rendu ces années tellement chaleureuses et riches...Patrick, Christian, Alexis, Chantal, Laetitia, Cécile, Caroline, Christine (blabla blabla), Jojo (la vie est belle !), Sylvie D², Pierre, Laurence MH, Laurence L (« encore une petite question ? »), Florent, Damien B, Asfaw, Florence, Aurélie, Thierry (« tu vas pouvoir commencer à travailler, j'y vais »), Anne, Hervé (du « cardiaque à fond d'cal » à la citronnelle, merci d'avoir toujours été motivé pour les coups de pelle), David (tous mes vœux de réussite pour ta nouvelle carrière !), Remi, Romain, Norbert, Géraldine, Jean-Pierre, Fabrice, Fabien, la Pépète, Johanne, Marine, Charlotte.

J'envoie une grande hola à Kevin, pour son humeur toujours égale et sa rigueur au travail. Cette thèse lui doit beaucoup...du fond du cœur Merciiiiiii Rodger ! Je n'oublierai jamais ton aide infallible, sur tous les plans...

Enfin, pour leur présence quotidienne, même à l'autre bout du bout du monde, pour leurs soutiens indéfectibles, pour le partage de nos joies, nos peines et pour leurs adorables caractères...merci à mes amis, mes camarades, mes potes et mes colloc' et à ceux qui sont tout ça, à la fois ! À Mélo et son chevreuil (fougueux !), à Mycot' et Minouch' (cul sec!...race de pluie), Antoine et Mathilde (Oui oui j'ai bien remarqué on ne voit plus de carrés jaunes), Julie et Céline, la grande chiche et Titi Poulet (un beau couple de plus, né le jour B!), Romain (courage pour la fin mais surtout pour tu sais quoi !), Renaud (Confitéor au chabada), Hea (flamich forever !), le luminothérapeute, Anaïs, Jean-Max (c'est trop bon ce mounsteur), le trois coct'u au mariage de Sabine et Michel ! Isaac, Laura, Laure (ma fille !!), la locomotive vosgienne, Marga (quoi plus ? Zebra !) et bien sûr, à toute la bande de cantenois, avec qui j'ai grandi, canne à la main les pieds dans l'eau, qui m'ont laissé tant de souvenirs d'enfance impérissables et grâce à qui j'ai toujours « du vent dans mes mollets », le flo dit vieux Gars (On viendra on viendra !!!), l'Océane, le Stéphen, le Vinc', le tètère...

Pour finir, j'adresse mes plus profonds remerciements à ma famille en particulier à mes Grands-Parents et Parents, pour les valeurs qu'ils m'ont transmises. Merci pour votre tolérance, votre soutien quoi qu'il arrive, votre grande confiance : vous me permettez chaque jour d'être épanouie et de profiter de la vie ! Merci du fond du cœur !

Je voudrais dédier ce travail à celle qui me fait mourir de rire, qui est capable de me parler 2h alors que je dors, qui vénère le camembert...Manue, ma sœur, le piaf !

Table des matières

Introduction générale.....	1
CHAPITRE 1. ETAT DES CONNAISSANCES, ENJEUX ET PROBLEMATIQUES 5	
I. Evaluation de la qualité des sols, quels indicateurs ?.....	6
I.1. Les sols, compartiments terrestres essentiels et une ressource sous pression.....	6
I.1.1. <i>Enjeux sur les sols de la production végétale à des fins énergétiques</i>	6
I.1.2. <i>Développement d'indicateurs et protection des sols</i>	8
I.1.3. <i>Rémunération des services écosystémiques assurée par les sols comme moyen de protection.</i> 10	
I.2. Le concept de qualité des sols et les indicateurs utilisés	12
I.2.1. <i>Définition de la qualité des sols</i>	12
I.2.2. <i>Indicateurs de qualité des sols</i>	15
I.2.3. <i>Fonction intégrative de la matière organique du sol</i>	21
I.2.4. <i>Techniques d'intégrations des données et mode de calcul de la qualité des sols</i>	26
I.3. Conclusion.....	28
II. Impacts sur le sol du développement des TTCR de saules.	28
II.1. Cadre du développement des TTCR de saules.....	28
II.1.1. <i>Contexte socio-économique</i>	28
II.1.2. <i>Contexte environnemental</i>	31
II.1.3. <i>Itinéraire culturel</i>	35
II.2. Ecologie et fonctionnement des sols sous des TTCR de Saules	40
II.2.1. <i>Efficience du cycle des nutriments et fertilité</i>	40
II.2.2. <i>Synthèse des pratiques visant à maintenir le fonctionnement du sol</i>	45
II.2.3. <i>Dynamique du cycle du carbone sous TTCR</i>	46
II.2.4. <i>Impact de la culture de TTCR sur les organismes du sol</i>	50
III. Conclusion: État des connaissances et recherche à développer.	56
IV. Objectifs de la thèse	57
CHAPITRE 2. MATERIEL ET METHODES	61
I. Dispositif expérimental	62
I.1. Choix des sites d'études	62
I.2. Présentation des sites.....	62
I.2.1. <i>Contexte pédoclimatique</i>	62
I.2.2. <i>Caractéristiques des parcelles choisies</i>	63
I.2.3. <i>Sol des parcelles</i>	67
I.2.4. <i>Données climatiques</i>	68
I.3. Échantillonnage du sol et des racines.....	70
II. Paramètres mesurés.....	72
II.1. Paramètres liés aux propriétés chimiques, physico-chimiques et à la fertilité	72
II.1.1. <i>Matière organique, Ntot, éléments disponibles et CEC</i>	72
II.1.2. <i>Azote minéral (N-NO₃⁻, N-NO₂⁻ et N-NH₄⁺)</i>	73
II.1.3. <i>pH</i>	73
II.1.4. <i>Humidité du sol</i>	74
II.2. Paramètres d'activité biologique.....	74
II.2.1. <i>Activités enzymatiques</i>	74
II.2.1. <i>Respiration basale</i>	77
II.2.2. <i>Nitrification Basale</i>	79
II.3. Paramètres liés aux communautés microbiennes et à la faune.....	79

II.3.1.	<i>Quantification et analyse de la structure des communautés microbiennes.....</i>	79
II.3.2.	<i>Inventaire non exhaustif des champignons ectomycorhiziens sur les parcelles.....</i>	85
II.3.3.	<i>Colonisation endomycorhizienne.....</i>	85
II.3.4.	<i>Population lombricienne.....</i>	87
II.4.	Caractérisation des matières organiques.....	89
II.4.1.	<i>Biodégradation et minéralisation des MO.....</i>	89
II.4.2.	<i>Fractionnement chimique des MO.....</i>	89
II.4.3.	<i>Pyrolyse Rock Eval.....</i>	92
II.5.	Estimation du bilan nutritif et du bilan carbone des plantations.....	97
II.5.1.	<i>Récolte des litières, strates herbacées et plaquettes.....</i>	97
II.5.2.	<i>Minéralisation et dosage des éléments des végétaux.....</i>	98
II.5.3.	<i>Densité apparente et calcul du stock de carbone.....</i>	99
II.5.4.	<i>Bases pour calculer le bilan nutritif et carbone des parcelles de TTCR.....</i>	99
III.	Analyses statistiques.....	103

CHAPITRE 3. EFFET D'UN CYCLE DE TROIS ANS DE TTCR DE SAULE SUR LES PROPRIETES DU SOL COMPARE AUX SOLS SOUS BANDES ENHERBEES, FORET ALLUVIALE ET AGROSYSTEME CONVENTIONNEL 105

I.	Introduction.....	108
II.	Materials and methods.....	111
II.1.	Field experimental site and sampling.....	111
II.2.	Soil analyses.....	112
II.3.	Enzyme activities.....	112
II.4.	Soil Basal Respiration (SBR).....	114
II.5.	Soil Basal Nitrification (SBN).....	116
II.6.	Fungal and bacterial abundance and community structure.....	117
II.7.	Earthworm sampling and analyses.....	119
II.8.	Statistical analysis.....	119
III.	Results.....	120
III.1.	Soil fertility parameters.....	120
III.2.	Biological activity parameters.....	121
III.2.1.	<i>Soil Basal respiration (SBR) and Soil Basal Nitrification (SBN).....</i>	121
III.2.2.	<i>Enzymatic activities.....</i>	121
III.3.	Biological communities (earthworms, fungi and bacteria).....	122
III.4.	Correlation between the studied parameters.....	125
IV.	Discussion.....	126
V.	Conclusion.....	132

CHAPITRE 4. EVOLUTION TEMPORELLE DE LA QUALITE DU SOL SOUS UNE PARCELLE DE TTCR COMPAREE AUX SOLS SOUS BANDES ENHERBEES, FORET ALLUVIALE ET AGROSYSTEME CONVENTIONNEL 133

I.	Introduction.....	136
II.	Material and methods.....	138
II.1.	Field experimental sites, sampling and soil analysis.....	138
II.2.	Biochemical analyses.....	139
II.2.1.	<i>Enzyme activities.....</i>	139
II.2.2.	<i>Soil Basal Respiration (SBR).....</i>	141
II.3.	Fungal and bacterial density and community structure.....	141
II.4.	Earthworms sampling and analyses.....	142
II.5.	Statistical analysis.....	142
II.6.	Soil quality indices (SQI).....	142

III.	Results.....	145
III.1.	Soil chemical properties and fertility parameters.....	145
III.2.	Soil biological and biochemical activities.....	147
III.3.	Biological communities (earthworms, fungi and bacteria).....	152
III.4.	Evolution of soil parameters with sampling times.....	154
III.5.	Soil Quality Indices.....	155
IV.	Discussion.....	157
IV.1.	Nutrient cycle efficiency under SRC.....	157
IV.2.	Use of bioindicators to monitor soil biological functioning over two years under SRC.....	158
IV.3.	Soil Quality Index (SQI) use for SRC management.....	161
V.	Conclusion.....	162

CHAPITRE 5. CARACTERISATION ET EVOLUTION TEMPORELLE DES COMMUNAUTES LOMBRICIENNES ET MICROBIENNES SUR 4 PARCELLES DE TTCR COMPAREES A DES PARCELLES ENHERBEES, DE FORET ET D'AGROSYSTEME..... 165

I.	Introduction.....	167
II.	Matériel et méthodes.....	170
II.1.	Description des sites.....	170
II.2.	Echantillonnage.....	171
II.3.	Analyses.....	171
II.3.1.	<i>Paramètres mesurés</i>	171
II.3.2.	<i>Statistiques</i>	173
III.	Résultats.....	175
III.1.	Description des strates herbacées des parcelles de saules.....	175
III.2.	Communautés bactériennes et fongiques totales.....	176
III.2.1.	<i>Densité, structure des communautés et diversité bactérienne</i>	176
III.2.2.	<i>Densité, structure et diversité des communautés fongiques totales</i>	179
III.2.3.	<i>Rapport F:B</i>	182
III.3.	Identification partielle de champignons ectomycorhiziens.....	182
III.4.	Colonisation par les champignons mycorhiziens à arbuscules.....	183
III.5.	Etude des communautés lombriciennes.....	185
IV.	Discussion.....	190
IV.1.	Variation des paramètres mesurés aux différents usages des sols et influence des TTCR sur les communautés biologiques.....	190
IV.2.	Effet du temps et du site sur les paramètres biologiques mesurés.....	193
IV.2.1.	<i>Effet du temps</i>	193
IV.2.2.	<i>Effet du site</i>	195
IV.2.3.	<i>Influence de l'âge des parcelles de TTCR et des précédents culturaux</i>	196
V.	Conclusion.....	197

CHAPITRE 6. COMPARAISON DE DEUX METHODES POUR ESTIMER L'IMPACT DES TTCR SUR LA QUALITE DU SOL : LES COURBES DE REPONSES PRINCIPALES ET LE CALCUL D'INDICES DE QUALITE. 199

I.	Introduction.....	201
II.	Matériel et méthodes.....	204
II.1.	Sites sélectionnés.....	204
II.2.	Analyses.....	204
II.3.	Calcul des indices de qualité des sols.....	204
II.4.	Courbes de réponses principales.....	206

III.	Résultats	207
III.1.	Evolution temporelle et corrélation des paramètres sous les quatre usages du sol	207
III.2.	Mesure de la qualité du sol des parcelles par les IQS	208
III.3.	Evaluation de la qualité du sol avec des courbes de réponses principales	214
IV.	Discussion	217
V.	Conclusion	221

CHAPITRE 7. EFFET A COURT TERME DE LA PLANTATION DE TTCR DE SAULES SUR L'EVOLUTION DES MATIERES ORGANIQUES DE SOLS ALLUVIAUX CALCAIRES. 223

I.	Introduction	225
II.	Matériel et méthodes	227
II.1.	Biodégradation et minéralisation des MO.....	227
II.2.	Fractionnement chimique des MO	228
II.3.	Pyrolyse Rock Eval.....	228
III.	Résultats	229
III.1.	Analyses de MO, Ctot, Ntot et CEC.	229
III.2.	Biodégradation et couplage des cycles du carbone et de l'azote.....	231
III.3.	Fractionnement chimique des MO	234
III.4.	Caractérisation des matières organiques par pyrolyse Rock Eval (résistance thermique)	237
III.4.1.	<i>Paramètres généraux du signal S2 de pyrolyse RE et COT_{RE}.....</i>	237
III.4.2.	<i>Impact des usages, des sites et du temps sur les MO : estimation par pyrolyse RE.....</i>	238
III.5.	Corrélation entre les approches de caractérisations biologiques, chimiques et physiques des MO. 242	
IV.	Discussion	244
IV.1.	Impact quantitatif des TTCR sur les matières organiques du sol.....	244
IV.2.	Évolution des pools stables et labiles des matières organiques dans les TTCR de Semuy et Givry après 4.5 ans de plantation.	245
IV.3.	Impact des TTCR sur la qualité des matières organiques du sol.....	248
IV.4.	Comparaison des différentes approches de caractérisation des MO : le fractionnement chimique, la biodégradation et minéralisation et la pyrolyse Rock-Eval (RE)	250
V.	Conclusion	253

CHAPITRE 8. DISTRIBUTION DU CARBONE ET DES ELEMENTS NUTRITIFS APRES PLANTATION DE TTCR DE SAULES DANS L'ECOSYSTEME SOL-PLANTE. 255

I.	Introduction	257
II.	Matériel et méthodes	259
III.	Résultats	261
III.1.	Concentration et stock en éléments dans les sols et biomasse	261
III.2.	Flux de retours au sol, prélèvements annuels et exportations.	263
III.3.	Evolution des éléments dans l'horizon superficiel du sol et bilan estimé du carbone	268
IV.	Discussion	271
V.	Conclusion	275

CHAPITRE 9. DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALE. 277

Liste des figures

Figures du chapitre 1 :

Figure 1.1 : Étapes conduisant à la proposition d'indicateurs de qualité des sols appliqués à l'aménagement et la gestion du territoire.....	8
Figure 1.2 : Fonctions et services écosystémiques fournis par le compartiment sol.....	14
Figure 1.3 : Les différents niveaux de réponse des indicateurs de qualité des sols.	18
Figure 1.4 : Estimation approximative de la proportion relative des processus de stabilisation de la MO en fonction de son temps de résidence dans le sol d'après.	23
Figure 1.5 : Composition et distribution des matières organiques des sols d'après.....	24
Figure 1.6 : Flux de matières et équipements d'un parc agro-industriel de TTCR de saule...	30
Figure 1.7 : Schéma de plantation des TTCR	35
Figure 1.8 : Itinéraire cultural des Taillis à très Courte Rotation.....	36
Figure 1.9 : Morphologie foliaire de 6 géotypes de saules	39
Figure 1.10 : Entrées et sorties d'éléments nutritifs dans une plantation de TTCR.....	41
Figure 1.11 : Cycle du carbone dans une plantation de TTCR.	47
Figure 1.12 : Abondance totale de vers de terre dans une culture énergétique et dans un champ agricole planté avec une culture annuelle.....	52
Figure 1.13 : Effets potentiels de la mycorhization sur les TTCR de saule	54

Figures du chapitre 2 :

Figure 2.1 : Localisation des quatre sites et des parcelles choisies pour l'étude. Les coordonnées sont celles du centre des parcelles de TTCR ou celle de la ripisylve.	64
Figure 2.2 : Evolution temporelle des usages du sol sur les sites étudiés et correspondance avec les cinq temps d'échantillonnage (T0 à T4).....	66
Figure 2.3 : Photos illustrant les profils de sol des parcelles étudiées.	67
Figure 2.4 : Schémas illustrant le plan d'échantillonnage sur chaque parcelle.....	70
Figure 2.5 : Schémas synthétisant les prélèvements réalisés sur chaque usage du sol.	71
Figure 2.6 : Courbe permettant de définir les concentrations saturantes en substrat pour l'activité d'hydrolyse de la FDA dans les sols du site de Semuy.	75
Figure 2.7 : Ensemble des analyses réalisées sur les communautés microbiennes des parcelles de TTCR, bandes enherbées, ripisylve et agrosystème.	80
Figure 2.8 : Quadras d'échantillonnage de vers de terre	88
Figure 2.9 : Dosage des sucres réducteurs selon la méthode de Somogyi-Nelson.....	91
Figure 2.10 : Principales étapes et sorties de la pyrolyse Rock Eval	93
Figure 2.11 : Déconvolution du pyrogramme S2, obtenue par pyrolyse d'un échantillon de la parcelle d'Amagne prélevé en Novembre 2010.	96
Figure 2.12 : Photo d'un piège à litière sur la parcelle de Semuy (15 novembre 2011).....	97
Figure 2.13 : Flux du bilan carbone des plantations de TTCR.....	101

Figures du chapitre 3 :

Figure 3.1 : Effect of land use on biochemical and microbial activities	122
Figure 3.2 : Earthworm biomass, density, diversity and % of ecological groups in the four different land uses.	123
Figure 3.3 : Relative abundance and structure of the fungal community for the four land uses	124
Figure 3.4 : Principal Component Analysis (PCA) of the biochemical, biological and physico-chemical parameters, based on Pearson correlation matrix.....	126

Figures du chapitre 4 :

Figure 4.1: Example of the evolution over two years of some fertility parameters	146
Figure 4.2: Example of the evolution over two years of some biological parameters for the four land uses	151
Figure 4.3: Example of evolution over two years of some biological community parameters for the four land uses	153
Figure 4.4: PCA performed on the four land uses Short Rotation Coppice (SRC), Grassland (G), Forest (F) and Agrosystem (A) over two years of sampling : autumn 2010 (1), spring 2011 (2), autumn 2011 (3) and spring 2012 (4)..	154
Figure 4.5: Soil quality indices of fertility, biological activity and biological community from autumn 2010 to spring 2012 for the four land uses.....	156

Figures du chapitre 5 :

Figure 5.1 : Photos illustrant les strates herbacées des parcelles de TTCR.	175
Figure 5.2 : Evolution au cours du temps de la densité bactérienne et fongique, estimées par le nombre de copies de gènes d'ADNr 16S (A.) et 18S (B.) et leurs ratios (F:B) (C.) dans les parcelles de TTCR, de bandes enherbées (BE), d'agrosystème (A) et de forêt (F) des différents sites.	177
Figure 5.3 : Analyse en composantes principales de la structure des communautés bactériennes analysée par PCR-TTGE sur les quatre parcelles de TTCR, de bandes enherbées, forêt et agrosystème.	178
Figure 5.4 : Analyse en composantes principales de la structure des communautés fongiques estimée par PCR-TTGE sur les quatre parcelles de TTCR, les quatre bandes enherbées et sur la forêt et l'agrosystème).....	180
Figure 5.5 : Evolution au cours du temps de la diversité fongique estimée par l'indice de Shannon dans les parcelles de TTCR, les bandes enherbées (BE), d'agrosystème (A) et de forêt (F) des différents sites.....	181
Figure 5.6 : Apex racinaires de saules prélevés sur les parcelles d'Asfeld et Semuy en juin 2011	183
Figure 5.7: Densité des spores de champignons mycorhiziens à arbuscules (nombre/ 20g de sol) dans la rhizosphère (A.) et résultats des ANOVA à un facteur regroupant les usages (TTCR ou BE) ou les sites. Colonisation mycorhizienne des racines de saules sur les quatre parcelles de TTCR (B.) déterminés en mai 2010 (T0) et exemple de gel TTGE sur les parcelles de Givry et Semuy (C). F% : fréquences de colonisation; M% : intensité de colonisation des racines.....	184

Figure 5.8 : Analyse multidimensionnelle (« MDS ») de la structure des communautés de champignons mycorrhiziens à arbuscules des prélèvements T1 et T2..... 185

Figure 5.9 : Représentation en graphique radar des données de biomasse (Bvdt), densité (Dvdt), diversité (H'vdt) lombricienne, et proportion de vers épigés (epi), anéciques (ane), et endogés (end) des parcelles des quatre sites (Semuy, Givry, Asfeld, Amagne) en automne.. 186

Figure 5.10 : Analyse en Composante Principale des paramètres lombriciens dans les prélèvements d'octobre 2010 et 2011. 189

Figures du chapitre 6 :

Figure 6.1 : Indices de qualité du sol (IQS) calculés à partir des 22 paramètres mesurés sur les parcelles de TTCR, de bandes enherbées, d'agrosystème et de forêt des sites d'Asfeld, Givry et Semuy aux quatre temps de prélèvements et analyse de variance des données (ANOVA temps, usage, site)..... 208

Figure 6.2 : Proportion des trois « fonctions » du sol (activité biologique, fertilité, habitat pour les communautés microbiennes) dans le calcul des indices globaux de qualité du sol.. 214

Figure 6.3 : Courbes de réponses principales pour le jeu de données d'indicateurs évalués dans le temps sur les sites d'Asfeld, Givry et Semuy.. 216

Figures du chapitre 7 :

Figure 7.1 : Courbe cumulative d'évolution sur un mois d'incubation de la minéralisation du carbone organique (A.), taux de minéralisation du carbone après 33 jours d'incubation (B.) et effet de la minéralisation sur le C_{org} hydrosoluble (C.) sur les parcelles des sites de Givry et Semuy prélevés en automne 2010 (T1)..... 232

Figure 7.2 : Teneur en ammonium et nitrate des échantillons de sols incubés aux temps initial (Ti) et final (Tf) de l'incubation (A.), taux de nitrification à Tf de l'incubation (B.) et nitrification basale sur les 6 parcelles étudiées des sites de Semuy et Givry..... 233

Figure 7.3 : Effet de la minéralisation sur l'évolution des quantités de composés phénoliques, polysaccharides totaux et sucres réducteurs dans la fraction hydrosoluble des matières organiques au cours de l'incubation de 30 jours, en fonction des usages du sol (TTCR, Bandes Enherbées, Agrosystème et Forêt). Prélèvements d'automne 2010 (T1)..... 235

Figure 7.4 : C_{org} dosé dans les échantillons de sol après attaque acide par rapport au C_{org} initial de l'échantillon (C_{org} Stable) et C_{org} dissous après extraction à l'eau chaude par rapport au C_{org} initial (C_{org} labile)..... 236

Figure 7.5 : Corrélation entre le carbone organique total (COT NF ISO) mesuré par combustion sèche et le COT mesuré par pyrolyse Rock-Eval (COT_{RE})..... 238

Figure 7.6 : Diagramme IH/IO (Indice Hydrogène/Indice Oxygène) de l'ensemble des parcelles, les échantillons T0 et T1 sont confondus..... 239

Figures du chapitre 8 :

Figure 8.1 : Retour au sol et exportation de carbone et d'éléments nutritifs dans le système TTCR..... 260

Figure 8.2 : Calendrier hebdomadaire de la chute des litières (A) et quantité cumulée de la chute des litières (B). Les retombées à Asfeld étaient significativement supérieures à celles des parcelles de TTCR de Semuy et Givry (anova, p<0.05). La flèche correspond à la mise en

place des pièges (10 mai 2011). Les sols des parcelles ont été récoltés le lendemain du dernier prélèvement : semaine 46. Pluviométrie hebdomadaire (C.)..... 263

Figure 8.3 : Evolution de la CEC et des concentrations en carbone organique, azote total, phosphore disponible, potassium et magnésium échangeable dans les parcelles de TTCR par rapport à leurs sites de références..... 269

Figure 8.4 : Compartiments foliaires, ligneux, herbacés et racinaires (en tonnes de matière sèche/ha) et flux de carbone sur les trois parcelles de TTCR situées à Semuy, Givry et Asfeld (année 2011)...... 270

Liste des Tableaux

Tableaux du chapitre 1 :

Tableau 1.1 : Liste d'indicateurs fréquemment utilisés pour évaluer certains processus liés à la qualité des sols et impliqués dans la fourniture de services écosystémiques. Les V représentent les indicateurs retenus et sélectionnés dans ce travail. 17

Tableau 1.2 : Concentration dans le bois de différentes espèces de saules (mg/g de matière sèche), issus de parcelles non-fertilisées 42

Tableau 1.3 : Exportations annuelles totales en nutriments d'exploitations de TTCR de saule avec des modes de gestions variées..... 43

Tableau 1.4 : Mycorhization de différentes espèces de saules par EM et AM. 53

Tableaux du chapitre 2 :

Tableau 2.1 : Caractéristiques des quatre sites et des parcelles choisies pour l'étude..... 65

Tableau 2.2 : Caractéristiques physiques et chimiques des parcelles de TTCR (Semuy, Givry, Asfeld et Amagne) et des systèmes comparatifs (Bandes enherbées BE, Agrosystème et Ripisylve). 69

Tableau 2.3 : Enzymes extracellulaires étudiées, avec leurs substrats, standards et tampons correspondants pour contrôler leurs activités potentielles. 78

Tableau 2.4 : Mélanges réactionnels et conditions des PCR ciblant les ADNr bactériens (16S), fongiques totaux (18S), les ADNr de mycorhizes à arbuscules (AM) et les régions ITS des champignons totaux..... 81

Tableau 2.5 : Couples d'amorces utilisés pour les PCR.. 82

Tableau 2.6 : Composition et conditions de migration des gels TTGE pour les communautés fongiques (18S), bactériennes (16S) et endomycorhiziennes (AM).. 83

Tableaux du chapitre 3 :

Table 3.1 : Characteristics of the topsoil (0-15 cm) for each land use, SRC (Short Rotation Coppice), Grassland, Forest and Agrosystem. 113

Table 3.2 : Extracellular enzymes with corresponding substrates, buffers and standards to monitor their potential activity 115

Table 3.3 : Pearson correlation coefficients between physical, chemical and biological properties 128

Tableaux du chapitre 4 :

Table 4.1 : Indicators list integrated in the three soil quality index: their abbreviations, scoring curves, weighted factor (Wi) and ranking. 145

Table 4.2 : Result of two-ways (time and land use) ANOVAS, average values of soil parameters over the four seasons (n=12), different letter indicating significant differences. 148

Tableaux du chapitre 5 :

Tableau 5.1 : Caractéristiques des sols de surface (0-15cm) des parcelles de TTCR, des bandes enherbées (BE), de la forêt (F) et de l'agrosystème (A). 170

Tableau 5.2 : Ensemble des paramètres mesurés sur les communautés microbiennes et lombriciennes aux différents temps de prélèvements sur l'ensemble des parcelles..... 172

Tableau 5.3 : Résultats des trois ANOVA à deux facteurs (parcelles, usages/ et sites) sur les paramètres lombriciens des parcelles des sites de Semuy, Givry et Asfeld (a et b). Les valeurs représentent les moyennes sur les deux automnes T1 et T3 (n=6)..... 188

Tableau 5.4 : Synthèse des analyses de variances réalisées sur les paramètres liés aux communautés biologiques en fonction des usages (ANOVA usages et ANOVA parcelles), des sites (ANOVA sites) ou en fonction de l'âge et du précédent cultural des parcelles de TTCR (ANOVA antécédent)..... 194

Tableaux du chapitre 6 :

Tableau 6.1 : Ensemble des paramètres utilisés pour réaliser les courbes de réponses principales et pour calculer les indices de qualité du sol. 205

Tableau 6.2 : Valeurs moyennes (n = 3) des 22 paramètres analysés sur les différentes parcelles lors des échantillonnages de T1 à T4.. 209

Tableau 6.3 : Matrice de corrélations de Pearson de l'ensemble des indicateurs aux quatre temps (T1 à T4). Les valeurs en gras représentent des corrélations significatives à $p < 0.05$. Les cases grises soulignent les deux corrélations supérieures à 0.95. 211

Tableau 6.4 : Valeurs propres, variabilité expliquée par les différentes composantes de l'ACP (F1-6) et f_i calculés. La deuxième partie du tableau indique les vecteurs propres des indicateurs au carré (λ_j) classé par W_i décroissants (correspondant à leur poids dans le calcul des IQS). 213

Tableaux du chapitre 7 :

Tableau 7.1 : Comparaison de la concentration en matière organique (MO), du rapport C/N, des concentrations en carbone total (Ctot) et azote total (Ntot) et de la capacité d'échange cationique (CEC) entre les parcelles des TTCR des quatre sites, leurs bandes enherbées respectives et l'agrosystème..... 230

Tableau 7.2 : Paramètres issus de la déconvolution du signal S2. 237

Tableau 7.3 : Paramètres principaux issus de l'analyse du signal S2 de la pyrolyse RE (a.), les résultats présentés sont les moyennes des triplicats d'échantillonnage à T0 et T1 pour les parcelles des quatre sites suivis des écarts types. La deuxième partie du tableau concerne les résultats des ANOVAS à deux facteurs: sites (Semuy, Givry, Asfeld et Amagne), usage (b.). 240

Tableau 7.4 : Matrice de corrélation de Pearson entre le C_{org} stable, C_{labile} , les pourcentages des courbes F1 à F4, le taux de minéralisation du carbone (TMC), la respiration basale du sol (RB), le carbone organique total mesuré par pyrolyse RE (COT_{RE}), la quantité de C_{org} extraite à l'eau chaude : Corg hydrosoluble (C_{orgH}), les proportions de composés phénoliques (CP), polysaccharides totaux (PST) et sucres réducteurs (SRed) exprimés par rapport à la quantité de carbone organique total, la nitrification basale (NB), les indices hydrogène (IH) et oxygène (IO_{RE6}). 243

Tableaux du chapitre 8 :

Tableau 8.1 : Pourcentage en éléments et C/N des plaquettes et de feuilles de saules des trois parcelles de TTCR situées à Semuy, Givry et Asfeld et des strates herbacées présentes sous les saules..... 262

Tableau 8.2: Matière Sèche (MS) et stock d'éléments minéraux dans le bois de saules après trois ans de pousse, dans les litières de saules et les strates herbacées, et stock dans les 10 premiers cm des sols des trois parcelles de saules. 264

Tableau 8.3 : Flux internes de l'écosystème sol-plante des trois parcelles de TTCR sur l'année 2011 concernant le Corg, N, Ca, K, Mg, Na, P. 266

Tableau 8.4 : Bilan des retours au sol d'éléments nutritifs des parcelles de TTCR sur l'année 2011, exprimés en pourcentage par rapport au retour total estimé. 267

Liste des acronymes

ACV : Analyse de Cycle de Vie
ADEME : Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie
AILE : Association d'Initiative Locale pour l'Energie et l'Environnement
MA : Champignons mycorhiziens à arbuscules (endomycorhizes)
BCAE : Bonnes Conditions Agricoles et Environnementales
CE : Communauté Européenne
CEC : Capacité d'Echange Cationique
C_{org} : Carbone Organique
DCE : Directive Cadre Européenne
DPU : Droits à Paiement Unique
ECM : Ectomycorhizes
EDDS : Acide Ethylène Diamine-N, N'-Disuccinique
EDTA : Ethylène Diamine Tetracétique Acid
EE : Efficacité Energétique
FAO : Organisation des Nations Unies pour l'agriculture et l'alimentation (de l'anglais Food and Agriculture Organization)
GES : Gaz à Effet de Serre
HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
IEA : Agence internationale de l'énergie (International Energy Agency)
IQS : Indice de Qualité du Sol
LPO : Ligue Protectrice des Oiseaux
MDS : Jeu de données minimum (de l'anglais Minimum Data Set)
MEA : Evaluation des écosystèmes pour le millénaire (de l'anglais Millenium Ecosystem Assessment)
MOS : Matières Organiques du Sol
MS : Matière Sèche
OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economique
PAC : Politique Agricole Commune
PCR : Réaction en chaîne par polymérase (de l'anglais Polymerase Chain Reaction)
PSE : Paiement pour Services Environnementaux
R&D : Recherche et développement
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
SAU : Surface Agricole Utile
SE : Services Ecosystémiques
STEP : STation d'EPuration
TCR : Taillis à Courte Rotation
TTCR : Taillis à Très Courte Rotation
TTGE : Electrophorèse sur gel en gradient de température (de l'anglais Temporal Temperature Gel Electrophoresis)
UE : Union Européenne

Lexique des indicateurs

Français (chapitre 5 à 8)

RB: Respiration basale du sol
TMC: taux de minéralisation du carbone
HS: humidité du sol
Pase: activité de la phosphatase alcaline
Gase: activité glucosidase
Case: activité cellulase
FDA: hydrolyse de la FDA
Lase: activité laccase
LAP: activité leucine amino peptidase
G16S: nombre de copies d'ADNr 16S ou nombre de copies du gène d'ARNr 16S (/g de sol sec) ou densité bactérienne
G18S: nombre de copies d'ADNr 18S ou nombre de copies du gène d'ARNr 18S (/g de sol sec) ou densité fongique
F:B: G18S/G16S
H'18S: diversité fongique
Bvdt: biomasse de vers de terre
Dvdt: densité de vers de terre
H'vdt: diversité de vers de terre
Epi: pourcentage de vers épigés
Ane: pourcentage de vers anéciques
End: pourcentage de vers endogés
MO: concentration en matière organique
C/N: carbone/azote ratio
Ctot: carbone total
Ntot: azote total
P: phosphore disponible (méthode Olsen)
Ca: Ca²⁺ échangeable
Mg: Mg²⁺ échangeable
K : K⁺ échangeable
Na : Na⁺ échangeable
CEC : capacité d'échange cationique

Anglais (chapitre 3 et 4)

SBR: Soil Basal Respiration
CMR: carbon mineralisation rate
SM: soil moisture
Pase: alkaline phosphatase activity
Gase: glucosidase activity
Case: cellulase activity
FDA: FDA hydrolysis
Lase: laccase activity
LAP: leucine amino peptidase activity
G16S: DNAr 16S copy number or ARNr 16S gene copy number (/g dry soil) or bacterial density
G18S: DNAr 16S copy number or ARNr 16S gene copy number (/g dry soil) or fungal density
F:B: G18S/G16S
H'18S: fungal diversity
ewmB: earthworms biomass
ewmD: earthworms density
ewmH': earthworms diversity
Epi: epigeic percentage
Ane: anecic percentage
End: endogeic percentage
OM: organic matter concentration
C/N: carbon/nitrogen ratio
Ctot: total carbon
Ntot: total nitrogen
P: available phosphorus (Olsen method)
Ca: exchangeable Ca²⁺
Mg: exchangeable Mg²⁺
K: exchangeable K⁺
Na: exchangeable Na⁺
CEC: cation exchange capacity

Introduction générale

La nécessité de substituer aux énergies fossiles les énergies renouvelables, la croissance démographique mondiale et les besoins des pays émergents concourent à accroître les besoins mondiaux en bois (FAO 2010). Les cultures intensives de biomasse ligneuse sur des sols agricoles apparaissent comme une alternative pour protéger les ressources forestières mais engendrent de très fortes exportations de nutriments minéraux et nécessiteraient des fertilisations importantes pour maintenir des rendements élevés (Laclau 2012). Les changements d'usages et les exportations intensives font partie des causes majeures de dégradation des sols et impactent ou menacent directement le bien-être humain (Stallman 2011). En effet, le sol est une ressource vitale indispensable à l'écosystème Terre, non renouvelable à l'échelle humaine, qui assure des fonctions environnementales, économiques et sociales (de Groot et al. 2002). Le sol est resté longtemps une « boîte noire » dans le fonctionnement de l'écosystème, ainsi la prise en compte du rôle régulateur du sol dans les écosystèmes n'apparaît que tardivement au 20^{ème} siècle (Andrews et al. 2004). Cette récente et lente prise de conscience de leur destruction rapide à l'échelle de la planète a fait émerger le besoin de définir la qualité des sols, associée à la nécessité de les protéger (Robinson et al. 2012).

Parmi les cultures intensives de biomasse ligneuse, les plantations de Taillis à Très Courtes Rotations (TTCR) sont développées avec des essences à croissance rapide (peupliers, acacias, saules, eucalyptus...) dont les demandes en nutriments sont généralement fortes pour produire de grandes quantités de biomasse. Les rotations courtes (3-4 ans) peuvent permettre de détecter rapidement l'influence de ce changement d'usage sur le système sol-plante. En conséquence, ces cultures sont particulièrement intéressantes pour étudier l'impact des fortes exportations sur les propriétés et les modes de fonctionnement des sols. En effet, l'itinéraire cultural des TTCR, qui comprend des coupes à blanc, correspond à un changement radical du

fonctionnement du sol: les arbres qui sont des « pompes » très efficaces pour le prélèvement de l'eau et des éléments nutritifs sont éliminés mais une végétation plus ou moins abondante se développe rapidement. La matière organique, retourne au sol par les chutes de litière et des contraintes biologiques et climatiques totalement nouvelles apparaissent: modifications profondes des climats lumineux, thermiques et hydriques régnant à la surface du sol, modifications des communautés biologiques (Ranger et al. 2011). Le rôle majeur du recyclage de la matière organique dans les TTCR est relativement bien établi pour contribuer à entretenir la fertilité des parcelles (Jug et al. 1999a, Baum et al. 2009a) mais l'influence de cette sylviculture sur les communautés biologiques, en particulier microbiologiques du sol, et leurs activités reste peu connue.

L'objectif de ce projet de recherche, était **(1) d'étudier l'évolution du fonctionnement de sols soumis à des exportations intensives de biomasse suite à l'implantation de parcelles de TTCR de saule (2) de définir des paramètres et des indices de qualité des sols soumis à ces cultures**. Les finalités étaient donc, d'une part, de quantifier l'impact de la culture de TTCR de saules sur les caractéristiques et le fonctionnement du sol, et d'autre part de définir une méthodologie d'évaluation de la qualité des sols permettant de révéler les effets favorables ou défavorables de la conversion de sols arables en TTCR. Ce projet a été financé par l'Agence De l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME) et fait l'objet de la convention n°0975C0095 signée le 30 juin 2011 entre l'ADEME, l'IRSTEA de Grenoble, le CNRS de Nancy (Laboratoire des Interactions dans les Ecosystèmes Continentaux LIEC) et l'entreprise Kinomé, et soutenu par une convention CIFRE (numéro 2009/13/07).

Le manuscrit est structuré en neuf chapitres. Après cette introduction générale, le premier chapitre présente une synthèse bibliographique sur le développement et l'état des recherches d'indicateurs pour évaluer la qualité des sols et les impacts connus ou supposés de

la culture de Taillis à très Courte Rotation sur les sols. Il se termine par la présentation des objectifs détaillés de l'étude. Le deuxième chapitre présente les sites étudiés, les protocoles d'échantillonnages, les méthodes d'analyses mises en œuvre et les indicateurs utilisés pour suivre la qualité du sol, ainsi que les méthodes statistiques employées pour traiter les résultats. Les six chapitres suivants présentent les résultats obtenus et sont ou seront l'objet d'articles. Le troisième chapitre identifie des paramètres biologiques et chimiques qui sont sensibles et modifiés significativement par une plantation de TTCR et positionne cette culture au sein d'un gradient de pression anthropique défini par quatre systèmes d'occupation des sols ; forêt alluviale, bande enherbée, TTCR, agrosystème conventionnel. L'évolution temporelle de ces paramètres discriminants est mesurée dans le chapitre suivant et des indices de qualité des sols sont calculés pour comparer les quatre usages du sol (chapitre 4). Les indicateurs liés à la fonction d'habitat des sols pour les communautés biologiques (microbiennes et lombriciennes) peu étudiés au sein des TTCR, sont analysés dans le chapitre 5 avec une extension du dispositif à quatre sites permettant de valider les résultats en contexte alluvial calcaire. Il n'existe aujourd'hui aucun consensus autour d'une méthode de suivi de la qualité du sol. C'est pourquoi, dans le chapitre suivant, nous avons comparé deux méthodes pour estimer la qualité du sol à partir des données sur les 4 sites : Le calcul d'indices utilisé dans le quatrième chapitre, fondé sur des analyses de variance et des analyses en composantes principales et les courbes de réponse principale (*principal response curves*) (chapitre 6). De nombreux paramètres biologiques identifiés comme des indicateurs de poids dans ce contexte étaient corrélés à la concentration en matière organique du sol. Le 7^{ème} chapitre a été focalisé sur ce compartiment organique des sols, qui a été abordé par trois méthodes d'évaluation quantitative et qualitative, pour explorer le rôle intégrateur des paramètres liés à la qualité ou à la quantité des matières organiques dans l'évaluation de la qualité du sol. Enfin, le dernier chapitre de résultats vise à quantifier les stocks et les flux de carbone et d'éléments nutritifs,

interne à l'écosystème sol-plante des parcelles de TTCR. Ce chapitre apporte des arguments pour comprendre le fonctionnement de ces agro-écosystèmes et l'évolution de la fertilité des sols soumis à de fortes exportations. Le 9^{ème} et dernier chapitre est une discussion générale suivi de la présentation de perspectives.

Chapitre 1. Etat des connaissances, enjeux et problématiques

I. Evaluation de la qualité des sols, quels indicateurs ?

I.1. Les sols, compartiments terrestres essentiels et une ressource sous pression.

I.1.1. Enjeux sur les sols de la production végétale à des fins énergétiques.

Les besoins énergétiques et alimentaires mondiaux sont en rapide évolution sous l'influence de la croissance démographique et des besoins liés au développement de l'ensemble des pays mondiaux. La consommation d'énergie mondiale qui était d'environ 1,5 Mtep (Million de tonnes équivalent pétrole) en 1945, atteint aujourd'hui 12 Mtep, soit une augmentation de 800% (IEA 2012a). Selon le « World energy outlook 2012 » (IEA 2012b) la demande énergétique mondiale devrait augmenter de plus d'un tiers sur la période s'étendant jusqu'à 2035. La consommation de biomasse végétale pour la production d'énergie devrait quadrupler, avec des volumes échangés à l'international de plus en plus importants. La conversion des sols pour produire des ressources énergétiques connaît donc, ces dernières années un fort accroissement.

Les sols assurent une multitude de fonctions; ils lient intimement l'organique et le minéral ce qui leur confère des propriétés émergentes dépassant la simple addition des propriétés géologiques et biologiques (Gobat et al. 2010). Ils forment une interface active, essentielle au bon fonctionnement des écosystèmes terrestres, entre les enveloppes de la planète (biosphère, atmosphère, hydrosphère) et constituent un véritable support pour l'habitat de la majorité des espèces. Ils assurent la production en ressources alimentaires de presque tous les êtres vivants et contribuent à la qualité de l'eau et de l'air par des mécanismes de régulation (Girard et al. 2011).

Or, la dégradation et la diminution des surfaces agricoles utiles des sols s'accroissent : chaque jour plus de 220 ha de terres arables disparaissent en France (Agreste Primeur 2011) et

la ressource en sols, limitée au niveau mondial et non renouvelable à l'échelle humaine, est de plus en plus convoitée et soumise à d'importants conflits d'usage (Franca and Borrás 2013). De nouveaux services assurés par les sols sont attendus, tels que la production de biomasse à des fins énergétiques ou le stockage du carbone. Ces changements d'occupation du sol comptent parmi les principaux effets de l'homme sur l'environnement (Berthelin et al. 2011). Ils peuvent modifier les propriétés des sols et conduire à des évolutions significatives des systèmes sol-plantes voire à des dégradations (e.g érosion, tassement, perte en matières organiques, perturbation des cycles biogéochimiques, modification de la biodiversité) (Gordon et al. 2008, Burkhard et al. 2012). De plus, l'occupation des territoires, généralement considérée comme une problématique locale, a des externalités à l'échelle mondiale (Foley et al. 2005). En effet, ces changements dans l'utilisation des terres ont permis aux humains de s'approprier une part croissante des ressources de la planète, mais ils ont aussi potentiellement porté atteinte à la capacité des écosystèmes à soutenir la production alimentaire, à maintenir les ressources en eau douce et en surface forestière, à réguler le climat et la qualité de l'air.

Les cultures intensives à des fins énergétiques sur sols agricoles se sont développées en conséquence (i) de la prise de conscience mondiale des problèmes écologiques de la planète (conférence des Nations Unies sur l'environnement humain, en 1972 à Stockholm) (ii) de l'augmentation du prix des énergies fossiles suite aux différentes crises pétrolières (iii) de la raréfaction des ressources et de l'augmentation croissante des besoins humains en énergie. Parmi ces cultures, les essences ligneuses pérennes en Taillis à Très Courtes Rotations (TTCR) constituent un système agricole parmi les plus productifs (Ceulemans and Deraedt 1999). Ils peuvent produire entre 8 et 20 tonnes par hectare par an de biomasse sèche pour leurs parties aériennes (Robinson et al. 2004, Wilkinson et al. 2007). Leurs plaquettes de bois présentent un potentiel énergétique important, susceptibles d'intervenir en tant que complément aux ressources forestières, agricoles et industrielles. Ces cultures dites énergétiques, constituent

donc un exemple typique de forte pression sur les sols et ainsi un bon modèle d'étude de la résilience et de l'évolution des propriétés du sol face à l'exportation intensive de biomasse. Des indicateurs doivent être développés pour permettre l'évaluation quantitative et qualitative des états et dynamiques des milieux et éviter les impacts négatifs de ces productions végétales à des fins énergétiques.

1.1.2. Développement d'indicateurs et protection des sols

La prise en compte des sols comme ressource non renouvelable, considérée comme un patrimoine de l'humanité au même titre que l'eau ou l'air, modifie la perception du sol et met en évidence la **nécessité de développer des politiques efficaces de prévention et de protection** (Daily et al. 1997, Girard et al. 2011, Robinson et al. 2012). Le développement depuis 1990 des recherches sur la qualité des sols, et les efforts mis en œuvre pour proposer des indicateurs, devraient contribuer à l'amélioration des outils juridiques, réglementaires et économiques de protection des sols (figure 1.1).

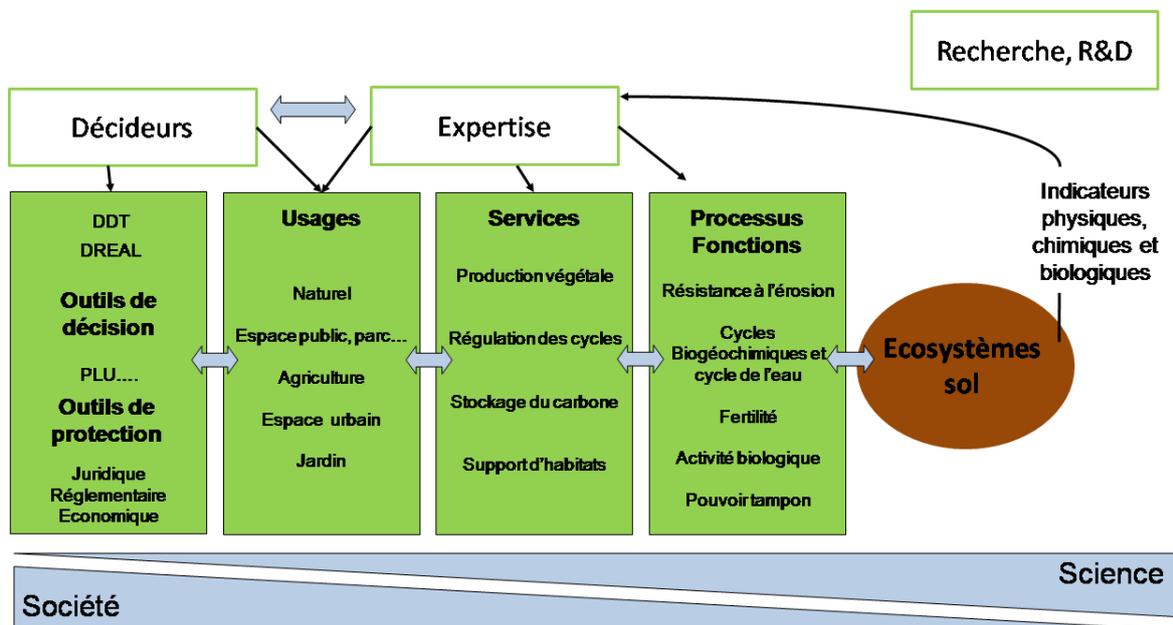


Figure 1.1: Étapes conduisant à la proposition d'indicateurs de qualité des sols appliqués à l'aménagement et la gestion du territoire (plan local d'urbanisme PLU, direction départementale des territoires DDT, direction régionale de l'environnement de l'aménagement et du logement DREAL).

Si des indicateurs physico-chimiques sont utilisés depuis longtemps en agronomie, le développement des recherches sur les bioindicateurs, lui, est plus récent : il conduit à des applications dont certaines sont aujourd'hui transférables de la recherche vers des laboratoires d'analyses pour être proposées en prestation de service comme depuis cette année par le laboratoire ELISOL environnement (analyse des communautés de nématodes) et les plateformes GenoBiome (avec INRA transfert) (analyse de biomasse et diversité microbienne) et BioChem-Env (mesures d'activités enzymatiques, <http://www.biochemenv.fr/>). L'OPVT (Observatoire participatif sur les vers de terre) permet aux agriculteurs de réaliser des prélèvements de vers de terre et d'enrichir des bases de données. Le LEB Aquitaine Transfert propose grâce à l'analyse des lipides foliaires de détecter des pollutions dans les sols (http://www.biomemb.cnrs.fr/LEB_Aqui_Trans.html) Les acteurs de l'aménagement du territoire attendent des outils d'aide à la décision émanant de la recherche. L'intégration, dans les Plans Locaux d'Urbanismes (PLU), de cartes de qualité des sols, de cartes des services utilisés ou potentiellement utilisables, permettra, dans un futur proche, de préserver les sols à fort potentiel agronomique des pressions urbaines et industrielles. La création de structures permettant des liens efficaces entre le développement d'indicateurs en recherche et les bureaux d'études chargés d'expertises sur la qualité des sols facilitera la prise en compte de la diversité des usages disponibles en fonction des types de sols et la préservation de la multifonctionnalité des sols pour les générations futures. Ces récentes avancées des connaissances doivent aussi permettre d'uniformiser, au niveau mondial et européen, les outils de protection des sols. Il n'existe aucun cadre législatif de protection des sols à l'échelle européenne. Le sol est protégé de manière directe et indirecte par divers codes juridiques et réglementations (e.g codes de l'environnement, de l'urbanisme, forestier, minier, les réglementations relatives aux installations classées pour la protection de l'environnement et les réglementations spécifiques sur l'eau, l'air, les déchets, les matières

fertilisantes et les produits phytosanitaires) dans lesquelles la notion de protection des sols intervient. La Commission Européenne (CE) a proposé en 2006 une directive-cadre sur les sols dont un des objectifs est de reconnaître les sols comme bien commun de l'humanité. En novembre 2007, le parlement européen a adopté, en première lecture, le rapport concernant cette proposition. Lors du Conseil «environnement» de mars 2010, quelques États membres ont bloqué la procédure, invoquant des motifs de subsidiarité, de coûts excessifs et de charges administratives. La proposition reste en attente du Conseil Européen (Commission Européenne 2012). Au niveau international, le protocole de Kyoto veut renforcer le rôle potentiel des sols en tant que réserve de carbone et limiter leurs pertes de carbone organique (FAO 2002) et plus récemment, les Nations Unies (UNCCD 2012) ont apporté des recommandations pour atteindre un niveau de dégradation zéro des sols afin d'assurer la sécurité alimentaire et combattre la pauvreté.

I.1.3. Rémunération des services écosystémiques assurée par les sols comme moyen de protection.

Des outils de protection avec des évaluations économiques se sont développés : les Paiements pour Services Environnementaux (PSE), les crédits carbone et plus généralement la monétarisation des flux et stocks des écosystèmes. La prise en compte du coût des services s'est imposée dans les thématiques de recherches et dans les politiques de gestion des territoires ces dix dernières années (Madani et al. 2012). Ces démarches pourraient être un moyen de promouvoir des pratiques plus écologiques en agriculture. Cependant, placer les services rendus par les sols dans une logique économique peut engendrer de nombreuses dérives. L'évaluation économique, consistant à produire un système mesurable revient à créer des classes d'équivalence, et permet donc d'évaluer uniquement les composants fongibles des écosystèmes ou de considérer comme fongibles des propriétés qui ne le sont pas (Salles 2011). D'autre part, des incitations « perverses » peuvent émerger et risquent de favoriser le

développement d'activités destructives pour pouvoir accéder à des subventions (Engel et al. 2008). Enfin, la compensation financière pourrait susciter la dégradation de milieux comme par exemple l'achat de droit à polluer dans le cadre du marché carbone.

L'objectif principal de la gestion agricole, centrée sur la production végétale et animale pourrait évoluer vers une prise en compte de la multifonctionnalité des sols comme le recommande le Millennium Ecosystem Assessment 2005 (Carpenter et al. 2009). Cependant, les propositions d'allouer 30% des aides directes de la PAC à des Mesures Agro-Environnementales (MAE) et de consacrer 7 % de surface des exploitations agricoles à des zones d'intérêts écologiques présentées par Dasian Ciolos, pour la réforme de la PAC 2013, ont été rejetées à la suite d'une opposition forte de la copa-cogeca (comité des organisations professionnelles agricoles et confédération générale de la coopération agricole) et de plusieurs ministres de l'agriculture des pays de l'union (Dufumier et al. 2013). Les nombreuses tentatives de réformes ou de mise en place de cadres législatifs harmonisés à l'échelle européenne ou mondiale permettant la protection des multiples fonctions des sols se heurtent à plusieurs limites :

- Les différentes fonctions du sol sont fournies par l'ensemble des paramètres du sol en interaction et dépendent d'un grand nombre de facteurs avec des effets de seuils. Il est aujourd'hui impossible de corréliser avec certitude les caractéristiques physico-chimiques ou biologiques avec l'ensemble des services, naturels ou en rapport direct avec les activités humaines, qu'ils remplissent (Cecillon 2008, Mace et al. 2012).
- La grande variabilité des sols, leurs hétérogénéités et la multiplicité des usages rendent difficile l'harmonisation des mesures de protection (Gobat et al. 2010).
- Le manque de connaissances et de valeurs seuils de références sur les indicateurs en particulier biologiques compliquent l'évaluation à grande échelle (Mele and Crowley 2008).

- Un ou des cadres précis d'évolution des paramètres (en fonction des types de sols) restent à construire pour porter un jugement sur les valeurs mesurées par ces indicateurs et pour apprécier la qualité des sols (Bispo et al. 2011, Robinson et al. 2012).
- Enfin, comme le sol relève de divers codes juridiques et réglementaires, y compris du droit privé, il est difficile d'intégrer une protection des écosystèmes. De plus, les enjeux économiques et industriels autour des sols restent soumis à d'importants lobbyings (Saenger 2013).

Il est donc nécessaire de préciser la notion de qualité du sol, d'identifier les valeurs seuils dans différents contextes et d'uniformiser les outils d'acquisition de données.

I.2. Le concept de qualité des sols et les indicateurs utilisés

I.2.1. Définition de la qualité des sols

La définition de Qualité des Sols (QS) doit être validée et rendue opérationnelle pour prévenir, contrôler ou restaurer les éventuelles dégradations. Cependant, **établir les liens entre les paramètres mesurés, les différentes fonctions du sol et les services rendus reste un défi scientifique majeur**. La recherche d'indicateurs « appropriés » pour évaluer le fonctionnement du sol dans un système quadridimensionnel (espace, temps) est un point central pour atteindre cet objectif.

La QS a été longtemps associée à sa fertilité car elle répond à la première fonction recherchée : la production végétale et animale. A partir des années 1990, de nombreux auteurs définissent la qualité du sol comme son « **aptitude à fonctionner au sein et dans les limites des écosystèmes naturels ou aménagés, afin de maintenir la productivité végétale et animale, maintenir ou améliorer les qualités de l'eau et de l'air, et soutenir la santé humaine et les besoins d'habitation** » (Larson and Pierce 1991, Doran and Parkin 1994,

Karlen et al. 1997). Cette définition entraîne la prise en compte d'externalité car le sol interagit avec les autres compartiments terrestres (biosphère, atmosphère, hydrosphère). La QS est aussi dépendante des limites de l'écosystème, elle est donc liée aux variabilités naturelles (climat, roche mère, topographie) et aux usages choisis. Par conséquent il n'y a pas de critères de qualité universelle pour les sols, mais des paramètres de fonctionnement, propres à un contexte pédologique ou d'usage donné. Cette définition inclut également la résilience pour le maintien d'un bon fonctionnement (Lal 1997). En 2005, le *Millennium Ecosystem Assessment* présente la synthèse de l'ensemble des services fournis par les sols à la société humaine. Les Services Ecosystémiques (SE) sont classés en quatre catégories : des **services d'approvisionnement** (e.g eau douce, ressource génétique, production agricole, sylvicole), des **services de régulation** (e.g effet tampon sur les inondations, inertie climatique par le stockage de carbone mais aussi le fonctionnement de l'ensemble des cycles biogéochimiques), des **services culturels, esthétiques et sociaux** (e.g mémoire des civilisations, organisation des paysages) des **services de soutien** aux conditions favorables à la vie sur terre (e.g production de dioxygène, d'habitats). Les SE ne sont pas des processus et peuvent être définis comme des flux (quantité par unité de temps) venant du sol et contribuant aux besoins humains (Dominati et al. 2010). La définition de la QS, d'abord centrée sur le service de production agricole sensu lato, englobe maintenant l'ensemble des services que les sols fournissent à leur environnement ou aux sociétés humaines (figure 1.2).

Cette volonté d'appréhender le sol dans toute sa complexité, et non comme une matrice physico-chimique pour l'agriculture, pourrait contribuer à la définition de meilleures conditions de protection des sols. Cependant, cette définition, centrée sur la fourniture et le maintien des SE rendus par les sols, comporte certaines limites : les services sont nombreux, inégalement renseignés et il existe de nombreuses contradictions ou concurrence entre les différents SE (Chenu and Barriuso 2013), entre le stockage de carbone et la productivité

agricole par exemple. Le mot fonction est parfois employé pour désigner un service écosystémique. D'autres fois, il représente un processus ou un paramètre de fonctionnement du sol et peut être également utilisé pour les usages (Bispo 2013). Dans cette thèse, nous reprenons la définition utilisée par de Groot et al. (2010) et reprise dans le comité scientifique GESSOL : « les fonctions sont les processus internes au sol issus des interactions entre les composantes biotiques et abiotiques, qui génèrent des produits et des services satisfaisant les besoins des sociétés. »

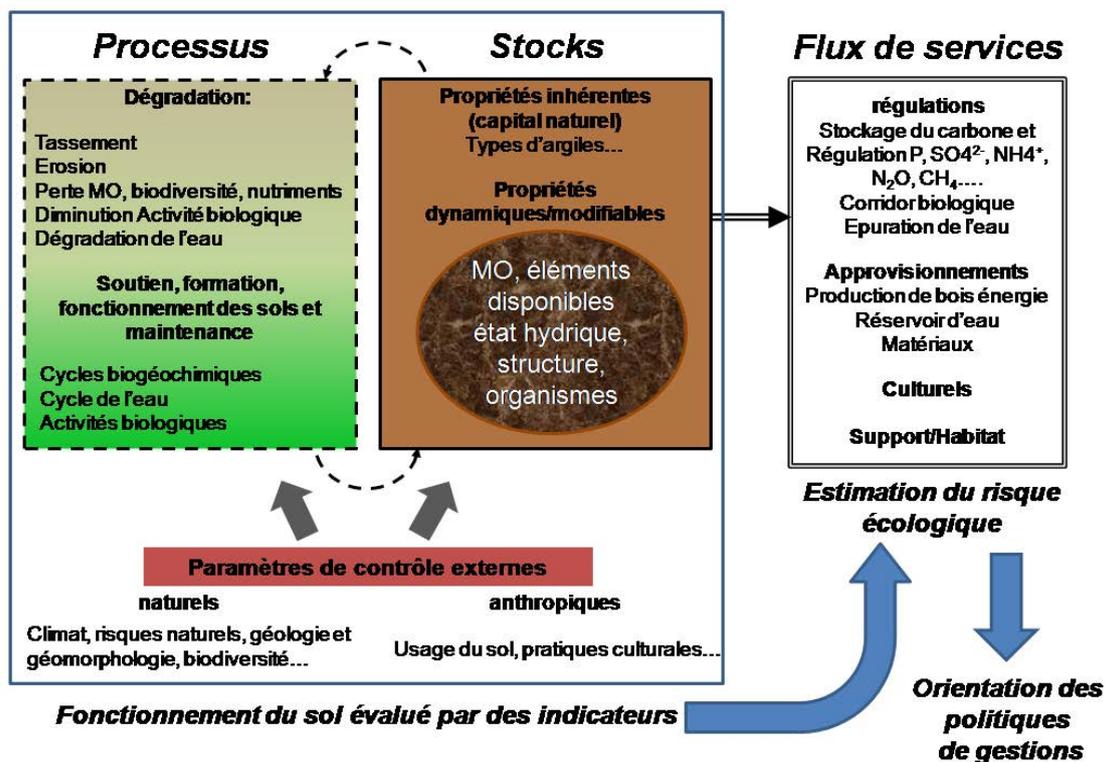


Figure 1.2 : Fonctions et services écosystémiques fournis par le compartiment sol, d'après Dominati et al. (2010).

Enfin, cette vision utilitariste du concept de QS présente un risque de gestion à court terme, avec une prise en compte limitée aux attentes actuelles (Bispo 2013, Chenu and Barriuso 2013).

L'estimation de la QS passe alors par l'amélioration de nos connaissances sur les processus et interactions entre les paramètres chimiques, physiques et biologiques des sols.

I.2.2. Indicateurs de qualité des sols

Les indicateurs doivent détecter les variations des SE (perturbations, dégâts, progrès ou tendance) et s'appuient sur l'évaluation des structures et processus du sol considérés comme indispensables à son bon fonctionnement, sa capacité de résilience (Berthelin et al. 2011b) et à la fourniture des services écosystémiques (Faber and Van Wensem 2012) (figure 1.2). Les indicateurs biologiques, biochimiques, physiques et chimiques utilisés dans l'évaluation de la qualité des sols sont présentés de manière non-exhaustive dans le tableau 1.1. Les indicateurs sont extrêmement nombreux : plusieurs méthodes différentes peuvent mesurer le même paramètre (e.g dosage de l'ergostérol, quantification du nombre de copies de gènes d'ARNr 18S, fumigation après inhibition sélective ou encore analyse des phospholipides membranaires « PLFA » pour estimer l'abondance fongique). Le choix des paramètres appropriés pour l'évaluation d'un processus ou d'une fonction est alors une étape délicate. Un indicateur unique ne permet pas d'évaluer une fonction : un ensemble d'indicateurs est nécessaire pour apporter des interprétations robustes (**recoupement / complémentarité**)(Andrews et al. 2004). Pour choisir un ensemble minimum d'indicateurs, des critères ont été répertoriés par de nombreux auteurs (Stenberg 1999, Bispo et al. 2011, Feix et al. 2012). Ils doivent:

- **être liés au fonctionnement** : intégrer des propriétés physiques, chimiques et biologiques bien corrélées avec des processus de fonctionnement du sol (cycle hydrologique, décomposition, symbiose, cycle nutritif) qui sont plus difficiles à mesurer directement.
- **être sensibles** aux variations de gestions et aux variations climatiques à long terme
- **être connus scientifiquement et avoir une pertinence écologique**: les variations « naturelles » dans l'espace et le temps tels que les saisons ou les variations de population doivent être maîtrisés (la biologie et l'écologie des espèces : alimentation, voies d'exposition aux polluants, reproduction, place dans la chaîne trophique, dynamique

proies prédateurs...) pour contrôler les interférences avec les effets des facteurs mesurés (pratiques agricoles, changement climatique).

- **être reproductibles** : faciles à utiliser et peu onéreux (échantillonnage et détermination) pour permettre un grand nombre d'analyses et présenter des bonnes qualités de mesure (précision, fiabilité, robustesse), faciles à mesurer dans un large éventail de types de sols et de conditions et être facilement utilisables tant par les spécialistes que par les gestionnaires des sols et les producteurs.
- **être interprétables** : ce qui nécessite de disposer de valeurs seuils de référence, de faire partie des référentiels existant sur les sols, et d'avoir un caractère universel (large distribution géographique, processus ubiquistes au sol). Le traitement des résultats doit permettre de mesurer l'impact d'un itinéraire cultural, d'une pollution ou d'une gestion territoriale. Les termes résultats, effets et impacts donnent lieu à une grande diversité d'utilisation, d'où une fréquente confusion et la difficulté d'identifier exactement ce qu'est l'impact. Par exemple, l'implantation de ligneux en sol agricole a pour résultat d'augmenter l'abondance fongique mais l'impact en serait la modification de l'humification et du cycle du carbone. L'impact ou l'effet correspond donc à un changement dans le fonctionnement de l'écosystème défini par le franchissement d'un seuil (Briske et al. 2006). L'interprétation des données obtenues avec les indicateurs doit alors fournir aux gestionnaires des recommandations sur les paramètres qu'il faudrait modifier ou non pour maintenir ou améliorer le fonctionnement du sol.

Tableau 1.1 : Liste d'indicateurs fréquemment utilisés pour évaluer certains processus liés à la qualité des sols et impliqués dans la fourniture de services écosystémiques. Les V représentent les indicateurs retenus et sélectionnés dans ce travail.

Paramètres physiques	Processus écosystémiques	Références bibliographiques	
Capacité de rétention en eau	Résistance à l'érosion, rétention et mobilité de l'eau et des nutriments, habitats pour la macro et microfaune, capacité potentielle de stockage du C, épuration pouvoir tampon, structure du sol, stabilité		X
Stabilité et distribution des agrégats		(Larson and Pierce 1991)	X
Densité apparente		(Karlen and Stott 1994)	V
Porosité totale		(Arshad et al. 1996)	X
Texture		(Singer and Ewing 2000)	V
Minéralogie		(Six et al. 2002)	X
Paramètres chimiques	Processus écosystémiques	Références bibliographiques	
Azote total (Ntot)			V
Azote inorganique (NH ₄ ⁺ , NO ₃ ⁻)	Disponibilité des nutriments, productivité de l'écosystème, fertilité du sol, cycles biogéochimiques		V
Phosphore disponible			V
Capacité d'échange cationique (CEC)		(Larson and Pierce 1991)	V
pH		(Drinkwater et al. 1996)	V
Eléments échangeables (Mn,Al,Fe,K,Na,Mg,Ca)			V
MOS (teneur) Corg total		Structure du sol, stabilité, résistance à l'érosion, rétention des nutriments, réserve en carbone, fertilité potentielle, pouvoir tampon	(Reeves 1997) (Carter 2002)
MOS (stocks)			V
MOS (qualité) groupes fonctionnels, composés (lipides, sucres, phénols...) Corg extractible, C/N	Cycles biogéochimiques, disponibilité/récalcitrance des substrats organiques, capacité de stockage du sol	(Ghani et al. 2003) (Crow et al. 2009)	V
Pollution chimique ou organique	Risque potentiel de toxicité et transferts dans l'environnement	(Bourrelier and Berthelin 1998)	X
Paramètres biologiques	Processus écosystémiques	Références bibliographiques	
Respiration du sol	Activité globale, minéralisation du C		V
Activités enzymatiques	Activités microbiennes spécifiques des cycles biogéochimiques		V
Amonification, Nitrification, Dénitrification	Fonctionnement du cycle de l'azote		V
Abondance des communautés microbiennes	Humification	(Stork and Eggleton 1992) (Kennedy and Papendick 1995)	V
Diversité et structure des communautés microbiennes	Etat sanitaire du sol, état des matières organiques disponibles, fonctionnement des systèmes sol-plante	(Karlen et al. 1997) (Andrews et al. 2004)	V
Communautés macrofaune	Structure du sol, réseaux trophiques, état sanitaire du sol		V
Biomasse végétale	Rendement, support de végétation		V

Les deux programmes Bioindicateurs de l'ADEME ont largement progressé sur ces concepts (Bispo et al. 2009, Feix et al. 2012). Cependant, d'un point de vue pratique, les indicateurs ne sont validés que dans une problématique bien définie, dans un contexte pédologique et d'usage donné avec des variations très importantes et des comportements contradictoires selon les cas. D'autre part, de nombreux auteurs pointent le manque de valeurs de référence (Arshad and Martin 2002, Failing and Gregory 2003, Chaer et al. 2009).

Pour de nombreux indicateurs la totalité des critères requis n'est pas validée et des recherches sont encore nécessaires.

Par conséquent, des critères d'applications et/ou d'utilisation doivent être définis pour chaque indicateur. Les indicateurs possèdent tous leurs propres facteurs de réponse aux perturbations (temps et sens de variation), leurs propres échelles d'application (espaces de comparaisons possibles) et leurs propres valeurs seuils à partir desquelles le fonctionnement du sol est perturbé (Karlen and Stott, 1994) (figure 1.3).

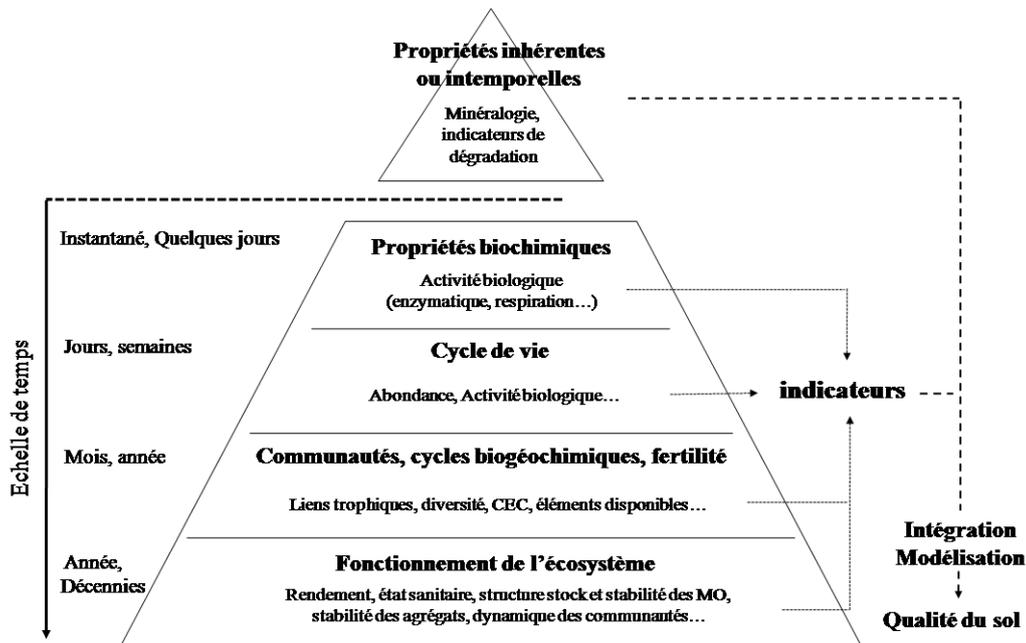


Figure 1.3 : Les différents niveaux de réponse des indicateurs de qualité des sols d'après Feix et al. (2012).

La sensibilité des indicateurs n'est pas équivalente. Le temps de réponse rapide des indicateurs biologiques et microbiologiques fait d'eux des « alerteurs » potentiels dans un programme de surveillance des sols (Jordan et al. 1995). Les bioindicateurs sont très nombreux, allant des populations microbiennes et de leurs activités à la faune et macrofaune du sol jusqu'à la végétation. Leurs champs d'application, leurs limites et leurs utilisations sont moins bien définis que ceux des indicateurs physiques et chimiques (Stenberg 1999). Ils font l'objet de nombreuses recherches et leurs perspectives d'application sont prometteuses : ils permettent d'aller au-delà des paramètres de fertilité et d'aborder la résilience du sol (Havlicek 2012, Heger et al. 2012, Cluzeau et al. 2012). Ils sont par ailleurs très sensibles à des variations saisonnières (température, humidité, flux saisonniers de nutriments...) dont les effets doivent être pris en compte. Les perspectives et les enjeux des recherches concernant les indicateurs rencontrent trois grands domaines:

Tendre vers l'universalisation: Des changements d'échelle doivent être envisagés pour une meilleure prise en compte des variabilités spatiales (ensemble des contextes et usages), des dynamiques temporelles (équilibre, franchissement des seuils) et des sensibilités aux différentes contraintes. Construire un référentiel commun permettant de lier les bases de données aux processus du sol et à leurs conséquences sur les services écosystémiques est un véritable défi scientifique.

Etablir une méthodologie commune : L'abondance de tests est impressionnante. Par conséquent, les bases de données doivent être harmonisées et une synthèse des nombreuses méthodologies est nécessaire pour développer des protocoles fiables, rapides et économiquement abordables. La normalisation des tests est un champ émergent des recherches sur la QS. Seule une **approche pluridisciplinaire** devrait permettre de pallier les biais méthodologiques inhérents à chacune des méthodes.

Rendre opérationnelle l'évaluation de la QS pour les praticiens, des agriculteurs aux acteurs de l'aménagement du territoire : Le calcul d'indices, permettant de rendre opérationnelle sur le terrain la notion de qualité du sol, apparaît comme essentiel. Les recherches sur la « qualité des sols » sont nombreuses (> 30 000 références sur web of Knowledge). Peu d'entre elles tentent de construire des indices (environ 3000 références avec le terme indices de qualité des sols). Ceci souligne qu'il est encore difficile de quantifier la qualité d'un sol avec des indices dont la base est encore subjective. Des auteurs ont tenté de développer des méthodes d'évaluations de la qualité du sol, destinées aux agriculteurs et aux enseignants en sciences du sol (Liebig et al. 1996, Ditzler and Tugel 2002). Ces tentatives de rendre opérationnels les indicateurs de qualité des sols pour les usagers sont des premiers pas vers une gestion plus durable.

La mise en place d'indicateurs universels, applicables à toutes situations ou à de nombreuses situations présentera une étape ultime et doit être fondée sur des paramètres bien validés. Ils doivent établir des valeurs seuils du fonctionnement et de la stabilité des écosystèmes (Van Bruggen and Semenov 2000). D'autres resteraient plus spécifiques d'une situation géographique, d'un contexte d'occupation, d'un climat, d'un type ou d'une histoire du sol. Les matières organiques occupent une place centrale dans le fonctionnement des sols de la planète et assurent directement ou indirectement de nombreuses propriétés et des services écosystémiques indispensables aux sociétés humaines (Saenger 2013). Elles sont aussi fortement corrélées à de nombreuses propriétés du sol (chimiques, physiques et biologiques) et constituent par voie de conséquence un indicateur intégrateur du fonctionnement et des qualités d'un sol et d'un écosystème.

I.2.3. Fonction intégrative de la matière organique du sol.

Les MOS structurent le sol et lui confèrent une résistance à l'érosion. Elles contribuent à sa perméabilité et à son aération (Balesdent et al. 2000, Chenu et al. 2000, Le Bissonnais et al. 2002, Annabi et al. 2007), elles constituent également un réservoir nutritif, d'éléments organiques et minéraux et d'eau, elles sont à la base des chaînes trophiques et sont donc impliquées dans le maintien de la biodiversité des écosystèmes terrestres (Birkhofer et al. 2008, Leroy et al. 2008). L'activité des organismes du sol libère des éléments nutritifs à partir du pool de MOS, ce qui leur confère un rôle majeur dans le contrôle de la fertilité et de la production agricole (Tiessen et al. 1994). Enfin, la résultante des flux de carbone échangés en permanence entre le sol et l'air contribue au stockage du carbone ou au contraire à l'émission de gaz à effet de serre (Lal 2003). Les caractéristiques de la MO peuvent être approchées par **son stock, sa composition et son turn over.**

Les MOS : un indicateur sensible aux changements d'occupation des sols et des pratiques culturales. Un sol, sous une occupation donnée possède une dynamique qui lui est propre et des taux d'apport et de minéralisation qui deviendraient identiques à l'équilibre. Un sol agricole ou forestier ou une prairie peut contenir une quantité plus ou moins stable de carbone organique (Haynes 2005, Sartori et al. 2006). Une perturbation du système ou un changement de pratique peut rompre cet équilibre. La MO va alors diminuer ou tendre vers le maximum théorique de C_{org} que peut contenir un sol si l'aménagement est effectué d'une façon à optimiser l'accumulation de MO et à minimiser sa décomposition (Lal 2004). Cette quantité potentielle est déterminée par les caractéristiques de la matrice minérale et du climat. Pour éviter les pertes de MO estimées pour les sols arables au niveau mondial, en moyenne, à 30 % de leur C_{org} initial (Post and Kwon 2000) il y a lieu de comprendre les mécanismes de stabilisation dans les sols pour utiliser les MOS comme indicateur de qualité. La connaissance des processus d'humification en tant que facteur de stabilisation (Duchaufour 2004), a été

améliorée par des études récentes qui montrent que des molécules considérées comme récalcitrantes (e.g lignines, lipides) peuvent avoir un turn over plus rapide que la MO globale (Amelung et al. 2008, Dungait et al. 2012, Schmidt et al. 2011).

Trois mécanismes majeurs de stabilisation de la MO ont été identifiés, avec des implications relatives variant en fonction de la nature des apports, de la texture et de la minéralogie des sols (figure 1.4) (Six et al. 2002, Von Lützow et al. 2006, Kögel-Knabner and Kleber 2011):

(i) Les interactions avec les particules minérales et les interactions des particules de MO entre elles (protection physico-chimique) stabiliseraient la MO sous forme d'un ensemble de petites molécules organisées en couches autour des particules minérales avec des niveaux de stabilisation différents (liaisons covalentes, ponts cationiques, échanges de ligands et interactions faibles : liaisons hydrogène, interactions hydrophobes ou forces de Van Der Valls) (Kleber et al. 2007). Les liaisons entre la MO et les minéraux au sein de la première couche peuvent être considérées comme irréversibles (Chenu and Stotzky 2001), tandis que la fraction de ce « complexe argilo-humique », plus éloignée du minéral, serait une association supramoléculaire relativement lâche, flexible, d'unités de petites tailles, stabilisée par des interactions hydrophobes et des ponts hydrogène (Sutton and Sposito 2005, Schaumann 2006)

(ii) La protection dans les agrégats (physique): La matière organique a un temps de résidence plus élevé dans les microagrégats. Les feuillets d'argiles sont une barrière vis-à-vis des possibilités de transfert d'enzymes susceptibles de dégrader la MO. Des conditions physicochimiques localement favorables (teneur en eau, en O₂, pH) peuvent également expliquer la protection de MO dans ces zones (Chenu and Plante 2006). Néanmoins, des questions d'échelle subsistent : les microagrégats se renouvellent en moyenne tous les 90 jours, avec une durée de vie plus importante en profondeur (Moni et al. 2010, Virto et al. 2010), et leurs dynamiques sont couplées à celles des microorganismes (Six et al. 2004). A quelle échelle spatiale a lieu la protection physique à court et à long terme ?

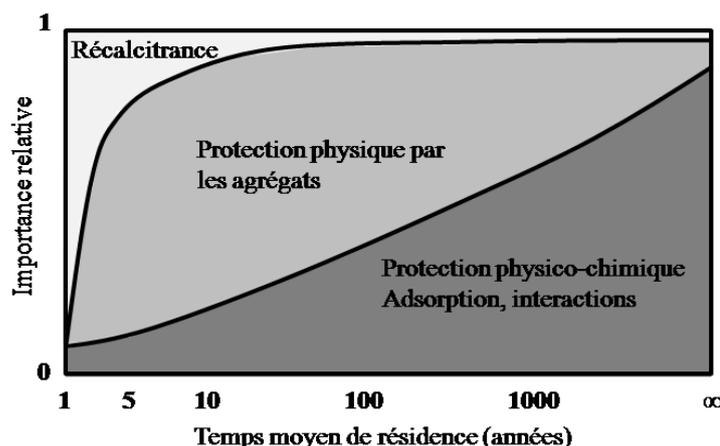


Figure 1.4 : Estimation approximative de la proportion relative des processus de stabilisation de la MO en fonction de son temps de résidence dans le sol d'après Kögel-Knabner and Kleber (2011).

(iii) **La stabilisation chimique** a été largement démontrée pour plusieurs constituants (notamment les charbons). Néanmoins, la part de ce mécanisme dans les processus de stabilisation est discutée. Il est difficile de distinguer les trois mécanismes, d'autant que les propriétés intrinsèques des molécules (e.g poids moléculaire, aromaticité, nature des groupements fonctionnels) détermine leurs interactions avec les surfaces minérales et peuvent favoriser leurs adsorptions sur les argiles (Schmidt et al. 2011). Un quatrième mécanisme stationnel peut être souligné : (iv) **la stabilisation environnementale**. Elle correspond à la préservation de MO dans certaines conditions pédoclimatiques où l'activité des microorganismes est diminuée (e.g. pH ou froid extrême, hydromorphie et anoxie) (Saenger 2013).

La minéralogie et la pédologie ont un rôle majeur dans la stabilisation des MO

Le carbone stable ne peut pas être quantifié par des indicateurs de la qualité de la MO

L'importance relative des processus de stabilisation dépendrait du type de sol et de la profondeur

La quantité de MO, fréquemment utilisée comme indicateur de qualité du sol (Karlen et al. 1997, Carter 2002, Andrews et al. 2004) ne peut l'être que dans certains milieux. Le

développement des recherches sur les processus de stabilisation pourrait conduire à préciser deux autres indicateurs complémentaires: la quantité maximale accumulable de MOS atteignable et la quantité potentielle correspondant au maximum théorique de stockage (Post and Kwon 2000).

La nature des matières organiques : des pools impliqués dans différents services écosystémiques. Le continuum de molécules humiques stabilisées en couche autour des minéraux présente une grande flexibilité. Les liaisons faibles sont très dynamiques et peuvent interagir avec la MO fraîche et labile. Les cations multivalents favorisent ces interactions (Sutton and Sposito 2005, Schaumann 2006, Berthelin et al., 2011). La MO labile et les « substances humiques » ou MO stable ne correspondent plus exactement à des MO de structures différentes. La séparation des pools de MO « active » et « stable » n'est pas évidente (figure 1.5) (Kiem and Kögel-Knabner 2003, Balesdent et al. 2011, Dungait et al. 2012). Les constituants des différentes fractions de la MO, leurs structures globales, la répartition des groupements fonctionnels, leurs structures élémentaires, peuvent-ils alors fournir des indicateurs ?

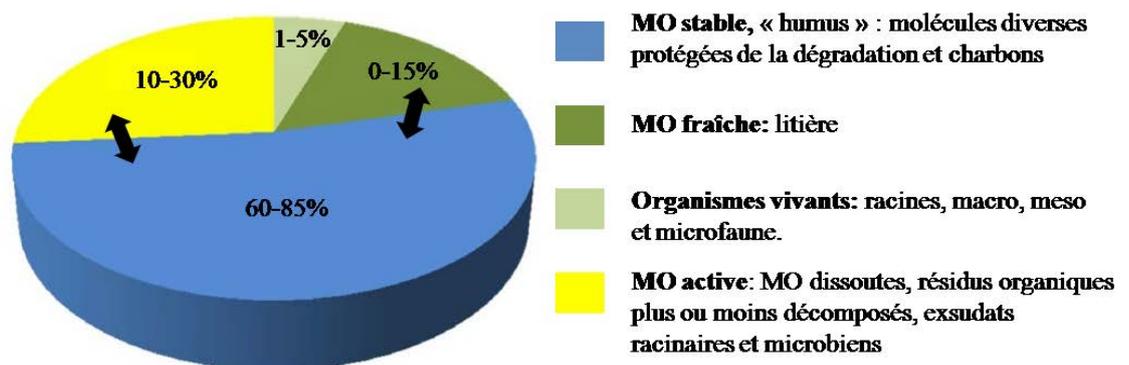


Figure 1.5 : Composition et distribution des matières organiques des sols d'après Saljnikov et al. (2013).

Lorsqu'un apport de litière se fait dans le sol, les composés hydrosolubles (lipides de faible masse moléculaire, peptides, acides aminés, des sucres simples, certains métabolites secondaires: tanins, pigments, alcaloïdes, terpènes...) sont rapidement décomposés par la faune et les microorganismes. Leurs stocks varient considérablement car ils sont

continuellement reconstitués par la décomposition des grosses molécules (polyphénols, pectine, cellulose, lignine...) (Berg and McClaugherty 2003, Fioretto et al. 2005). Ce pool chimiquement dégradable et physiquement accessible est la fraction biologiquement active du C_{org} . Ce pool qui ne représente que 10 à 30% de la MO totale du sol a un rôle fonctionnel majeur, il favorise la stabilité des macro-agrégats, et constitue une réserve rapidement assimilable de nutriments (Dommergues and Mangenot 1970, Loveland and Webb 2003, Haynes 2005). Il peut constituer un proxy pour l'estimation de la biomasse microbienne avec laquelle il est extrêmement bien corrélé (Ghani et al. 2003). Le pool stable est associé à d'autres fonctions. Il conditionne la capacité de rétention d'eau, la CEC et la microagrégation (Saljnikov et al. 2013). La variation quantitative et qualitative des différents pools de MO va donc modifier les services rendus par le sol. Différencier ces deux pools par leur structure chimique est difficile bien que la MO labile soit constituée de composés organiques simples et identifiables. Les nombreuses approches méthodologiques (fractionnement granulométrique, extractions chimiques, pyrolyse, spectroscopie RMN ou IR, minéralisation) tentent aujourd'hui de quantifier les pools à travers leurs états de disponibilité aux organismes, c'est-à-dire leurs degrés de stabilisation. Toutefois, la taille des pools estimée par les différentes techniques peut varier très largement (McLauchlan and Hobbie 2004).

Le couplage de techniques biologiques, chimiques et physiques apparaît nécessaire pour quantifier les différents pools de matières organiques.

Turn over des MOS : utilisation du « pool actif » comme indicateur précoce et très sensible aux changements de pratiques. Les changements de pratiques se répercutent très rapidement sur la fraction active alors que ceux-ci ne peuvent être mesurables sur la MO totale qu'à plus long terme (Graham et al. 2002, Haynes 2005). Les deux pools définis ci-dessus ont des temps de résidence dans le sol différents (Balesdent et al. 2011). La fraction active se renouvellerait environ tous les 5 ans. Une partie de la fraction stable appelée

communément « pool intermédiaire » à un turn over d'environ 50 ans, et celui du « pool stable », au sens strict, varie de 100 à plus de 1000 ans (Andreux and Munier-Lamy 1994). Le turn-over de la matière organique dépend de sa disponibilité à la dégradation. Sa vitesse, indirectement liée aux conditions climatiques et aux mécanismes de protection de la MO dans les sols, est conditionnée par l'activité biologique du sol. Le C_{org} du sol évolue vers un carbone moins énergétique, avec une énergie d'activation bien plus importante que celle du carbone labile. Le rapport coût-bénéfice change pour les décomposeurs. Par conséquent, ces MO de faible énergie ont un temps de résidence très long (Wickings et al. 2012). Le turn over du pool actif est lié à l'activité des microorganismes. Ils sont les contributeurs majeurs de la respiration du sol et sont responsables de 80 à 95% de la minéralisation du carbone. Les rôles du compartiment microbien dans le fonctionnement du sol sont antagonistes. Ils s'étendent de la minéralisation de la MO à l'élaboration de produits métaboliques qui contribuent à la formation des agrégats et du complexe organo-minéral. Ceux-ci protègent le C_{org} contre la décomposition (Haynes 2005).

1.2.4. Techniques d'intégrations des données et mode de calcul de la qualité des sols.

Un effort d'intégration et/ou de modélisation est nécessaire pour passer de la description du système sol par des indicateurs individuels à la compréhension de son fonctionnement en considérant diverses échelles spatiales et temporelles (figure 1.3). De nombreux auteurs ont proposé la synthèse des indicateurs au sein d'un indice de qualité du sol (IQS) (Larson and Pierce 1991, Larson and Pierce 1994, Liebig, 2001, Andrews et al. 2004, Wienhold et al. 2004, Velasquez et al. 2007, Imaz et al. 2010, Bhardwaj et al. 2011). Les auteurs estiment la qualité du sol en trois étapes : le choix des indicateurs, l'interprétation des indicateurs, et enfin l'intégration dans un index. Le **choix d'indicateurs** est réalisé en fonction du processus ou du service à évaluer. Plusieurs auteurs ont tenté de lier un ensemble

d'indicateurs à chaque fonction des sols ou à l'utilisation des terres (Brejda et al. 2000, Andrews et al. 2004, Faber et al. 2006, de Groot et al. 2010). Cependant, à ce jour aucun consensus sur un Minimum Data Set (MDS) « standard » n'a pu être trouvé. Cette difficulté est fondée sur la crainte qu'une approche "taille unique" mène à une évaluation des fonctions puis des services inadéquate ou inexacte (Rossi et al. 2009, Hailu and Chambers 2012). L'**interprétation** est fondée sur un concept de notation qui utilise une forte valeur de l'indicateur soit comme synonyme de qualité (c'est le cas par exemple de la CEC dans un contexte agronomique) ou soit comme indicateurs de dégradation de la qualité du sol. Enfin, certains indicateurs illustrent un bon fonctionnement des processus au sein d'une fourchette de valeurs optimales : c'est le cas notamment du pH. Selon ces *a priori*, chaque variable est normalisée en un score allant de 0 à 1. Selon les choix des auteurs l'**agrégation** est différente, allant de la simple addition des scores (Zahm et al. 2008) à la pondération de ceux-ci en utilisant des analyses multivariées (Wienhold et al. 2004, Rezaei et al. 2006, Imaz et al. 2010).

Des méthodes d'évaluation simplifiées considérant simultanément les aspects économiques, environnementaux et sociaux de l'agriculture avec une dimension temporelle et spatiale permettent d'évaluer la durabilité au niveau de l'exploitation (Zahm et al. 2008, Bélanger et al. 2012). Enfin, une méthode normalisée existe pour évaluer la qualité agronomique des sols (ISO/TC 190/SC7)(Mueller et al. 2012). La méthode est centrée sur le service de productivité et ne prend pas en compte la multifonctionnalité des sols. Elle permet néanmoins d'orienter la gestion des sols en fonction de leurs capacités agronomiques potentielles.

La construction des IQS reste relativement hétérogène en fonction des auteurs et se heurte à **plusieurs limites** :

- Le choix du MDS est subjectif et souvent fondé sur des hypothèses de l'impact potentiel.
- La multifonctionnalité des sols n'est pas prise en compte.
- Les indicateurs dont les champs d'application et les seuils de fonctionnement ne sont pas bien définis freinent l'interprétation qui reste basée sur des *a priori*.

I.3. Conclusion

Le sol du fait de sa forte hétérogénéité est difficile à évaluer en particulier pour définir sa qualité. Heureusement un grand nombre d'indicateurs sont disponibles et permettent d'atténuer les difficultés liées aux variabilités temporelles et spatiales dans le suivi de la qualité du sol. En l'état actuel, l'accumulation de connaissances conduit à un consensus pour qu'un outil de contrôle de la qualité des sols soit mis en place dans un futur proche (SWCS Special Publication 2007). Néanmoins, des seuils pour quantifier et évaluer chaque indicateur sont nécessaires afin d'établir un diagnostic rapide des aspects positifs ou négatifs de la gestion des sols et pouvoir adapter les systèmes d'exploitations et d'utilisation. Une approche de la qualité des sols, centrée sur les services, peut permettre d'aller au-delà d'un objectif de production maximale pour intégrer le mieux possible les modes de fonctionnements des sols et les bonnes pratiques de gestion à développer.

Evaluer les pratiques culturelles et les impacts de l'exportation intensive de biomasse sur les sols afin de contribuer de manière durable à l'approvisionnement de nos sociétés est un enjeu majeur du 21^{ème} siècle.

II. Impacts sur le sol du développement des TTCR de saules.

II.1. Cadre du développement des TTCR de saules

II.1.1. Contexte socio-économique

Les saules (famille des salicacées) sont dioïques et présentent une grande variabilité (> 400 espèces). Ils se prêtent bien aux activités de sélection et ont été historiquement cultivés par l'homme pour par exemple la vannerie (Smart et al. 2005). Ils possèdent un fort taux de productivité et supportent de larges conditions climatiques (Kopp et al. 2001). Cependant,

cette famille végétale est caractéristique des zones froides ou tempérées. Cultivés en Taillis à Très Courte Rotation (TTCR), les saules s'implantent à partir de boutures à une densité spatiale élevée, 15 à 18 000 plants par hectare sur une rotation de 2 à 5 ans. Les parties aériennes des TTCR sont récoltées tout en laissant les racines dans le sol, ce qui permet l'émergence de nouvelles tiges après chaque coupe. La production de biomasse à des fins énergétiques connaît, de manière générale, un regain d'intérêt reposant sur la nécessité d'acquiescer une sécurité et une autonomie énergétiques dans un futur proche (Volk et al. 2004, Volk et al. 2006, Laird 2008). La culture du saule en TTCR a été introduite en Suède après la crise pétrolière des années 70 (Sirén et al. 1987, Mirck et al. 2005). Toutefois, la fin des subventions gouvernementales suédoises en 1996 a freiné le développement des TTCR. La surface plantée est passée de 20 000 à 16 000 ha (Dimitriou et al. 2011). La Suède reste cependant « leader » de la culture en Europe suivie par les pays où il y a eu des incitations : la Pologne (9 000 ha), le Royaume Uni (6 000 ha), l'Italie (5 000 ha), l'Allemagne (5 000 ha) et la France (3 000 ha) (Faasch and Patenaude 2012). Cette culture est préconisée dans les stratégies de réduction des émissions de GES (Lettens et al. 2003) et dans les perspectives d'augmentation de la part d'énergie renouvelable dans la consommation énergétique (e.g Protocole de Kyoto, Grenelle de l'environnement) (Vande Walle et al. 2007b). Elle peut activer trois types d'aides européennes: les **Droits à Paiement Unique (DPU)** si elle est déclarée en jachère industrielle ou en culture énergétique (CE n°73/2009, article 34), **l'aide aux cultures énergétiques** hors jachère (CE n°1973/2004 articles 23 à 42) cumulable avec les DPU normaux mais pas les DPU jachères et s'élève à 45 euros par ha par an (annexe XXII du règlement n°1973). Pour être éligibles, les parcelles doivent être destinées à la production de biocarburant, de biogaz ou d'énergie. Le troisième type d'aide est **l'implantation de couvert ligneux sur jachère** (CE n°1973/2004 article 148) qui autorise les produits finis suivants : bois, charbon de bois, ouvrage en bois, pâtes de bois ou autres matières fibreuses

cellulosiques. Les déclarations d'engagements sont à adresser à la DDAF (Direction Départementale de l'Agriculture et de la Forêt) et l'ONIOIL (Office National Interprofessionnel des Oléagineux). Le développement des cultures de TTCR de saules s'ancre dans le contexte de « l'écologie industrielle ». La culture présente un faible niveau d'intrant, elle permet la valorisation de déchets, la filtration des eaux usées. La biomasse est utilisée à l'échelle locale (Erkman 2004). Les TTCR participent aux développements des zones rurales avec la mise en place de réseaux écologiques, de production de chaleur et d'électricité (Diemer and Labrune 2007, Dimitriou et al. 2009) (figure 1.6)

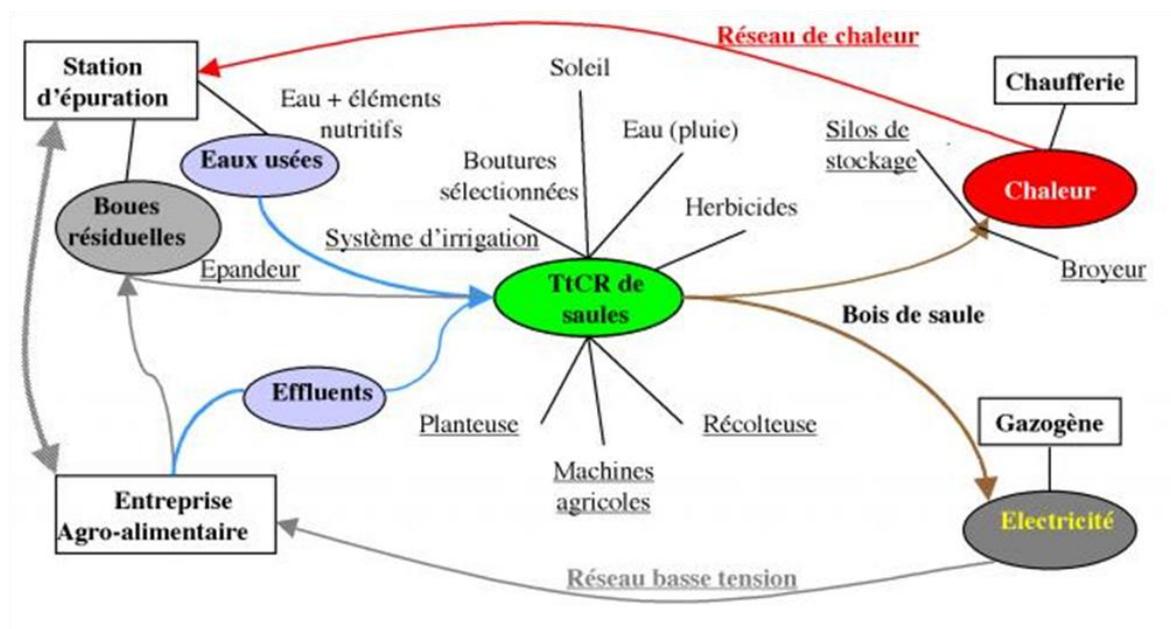


Figure 1.6 : Flux de matières et équipements d'un parc agro-industriel de TTCR de saule (Diemer and Labrune 2007)

Le coût de la culture (mise en place, entretien et récoltes) est d'environ 3500€/ha/20 ans. En retour, elle peut assurer une production allant jusqu'à 10 000 €/ha/20 ans. Cependant, pour les charges comme pour les recettes, la variabilité est très importante (Dalle 2009). Associer d'autres fonctions à celle de production d'énergie, comme le rôle de filtre végétal peut s'avérer nécessaire pour la rentabilité économique des cultures (Perttu 1999, Tubby and Armstrong 2002, Jørgensen et al. 2005). Parallèlement, les marges réalisées pourraient

augmenter avec le temps : d'une part le contexte économique actuel fondé sur les combustibles fossiles pourrait être remplacé par un modèle basé sur la biomasse (OCDE 2004) (IEA 2012b) et d'autre part les TTCR pourraient bénéficier d'aides émergentes (e.g crédits carbone, PSE).

Il existe **trois grandes orientations** pour les plantations:

- augmenter l'**autonomie** énergétique des exploitations,
- pérenniser les plans d'épandage et créer des circuits de **valorisation locale** des boues de stations d'épuration, des effluents d'élevage ou industriels,
- valoriser son activité d'innovation et agir pour la **protection des milieux naturels**.

II.1.2. Contexte environnemental.

La culture du saule en TTCR est multifonctionnelle (figure 1.6). Elle permet l'association des fonctions de production d'énergie avec plusieurs effets bénéfiques pour l'environnement: phytoremédiation, fonctions épuratoires, stabilisation des sols, corridor biologique pour certains mammifères, oiseaux ou amphibiens, brise vent, variations paysagères en zones agricoles...(MacIntosh and Bell 2001, Londo et al. 2004, Volk et al. 2006). Elle est également un réservoir de prédateurs pour lutter, en gestion intégrée, contre les pucerons des céréales (Langer 2001). Dès la première année de plantation, **les TTCR de saules augmentent la biodiversité de la faune et la flore par rapport aux cultures annuelles** (Sage 1998, Rich et al. 2001, Tubby and Armstrong 2002, Sage et al. 2006, Schulz et al. 2009, Baum et al. 2012) en intervenant favorablement par plusieurs voies:

- Le caractère pérenne du taillis et ses caractéristiques forestières favorisent les papillons, coléoptères et hémiptères de la canopée, absents sur cultures arables.
- La levée de la pression agricole conduit à une meilleure reproduction des espèces d'oiseaux protégées, l'alouette des champs, les grives, les linottes mélodieuses, les bouvreuils, les bruants des roseaux ainsi que des bruants proyer. Ces 6 espèces d'oiseaux

sont en déclin, ils sont surtout sensibles à l'intensification de l'agriculture, à l'arrachage des haies et à la disparition des prairies extensives.

- Les habitats voisins et l'historique des sites influencent la phytodiversité dans les TTCR qui est plus élevée que dans les champs cultivés ou les forêts de conifères mais plus faible que dans des forêts de feuillus. Plus la diversité des espaces voisins est élevée plus la diversité sera élevée dans le TTCR. Ainsi, l'implantation des TTCR, à côté d'habitats semi-naturels (haies, broussailles, zones humides, forêts), augmente la vitesse de colonisation, en particulier des oiseaux.
- Avec l'âge du taillis, des espèces d'oiseaux typiques des zones forestières s'installent (faisans, merle noir, mésange à longue queue, mésange bleue). Après chaque récolte, les espèces végétales ombrophiles sont remplacées par des espèces plus exigeantes en lumière jusqu'à ce qu'une large canopée se redéveloppe.

L'impact des TTCR sur les sols est moins étudié. Les facteurs identifiés et leurs conséquences sur l'évolution des communautés végétales et animales peuvent-ils être suivis conjointement par des effets « miroir » sur les sols ?

Bien que les *salicacae* ne soient pas des accumulateurs métalliques, **les TTCR ont été beaucoup utilisés pour leur capacité potentielle de phytoremédiation** (phytoextraction, rhizofiltration, phytotransformation, phytovolatilisation, phytostimulation, phytostabilisation). Ils ont une croissance rapide et les quantités de biomasse exportées sont importantes (Marmioli et al. 2011). Ils évapotranspirent de grandes quantités d'eau qui limitent la lixiviation (Persson and Lindroth 1994) et tolèrent de fortes concentrations en métaux lourds dans le sol (Hammer et al. 2003, Laureysens et al. 2004). Enfin, la pérennité du taillis et la présence des racines en hiver contribuent au fort pouvoir filtrant qui devient très actif dès le printemps pour prélever l'azote ou les polluants qui auraient migré dans le profil du sol (Baum

et al. 2009). Par conséquent, des travaux se développent pour utiliser les peupliers et les saules pour la phytoremédiation de contaminations métalliques et non métalliques (Cu, Pb, Zn, Cr, Ni, As ou Cd), aussi bien en conditions contrôlées de laboratoire (Fischerová et al. 2006) Wieshammer et al. 2007) que *in situ* dans des sols contaminés (Perttu 1998, Robinson et al. 2000, Dimitriou et al. 2006, Zimmer et al. 2012). Les teneurs moyennes extraites varient considérablement en fonction des niveaux de contamination, de la mobilité et disponibilité des métaux et des clones utilisés. Des essais avec des agents chélatants (Hammer and Keller, 2002, Dickinson et al. 2009) ou avec inoculation par des champignons mycorhiziens tentent d'améliorer la phytoextraction des saules (Baum et al. 2006, Zimmer et al. 2009, Hrynkiewicz et al. 2012). Cependant, des mesures correctives de pollution ne peuvent être attendues à court terme en raison de l'importance de la pollution de certains sites (Dickinson and Pulford 2005). Sur des sites peu contaminés, la culture de TTCR offre en revanche une opportunité de retour vers des valeurs admissibles comme par exemple pour les sols agricoles, enrichis en Cd par la fertilisation en phosphore ou enrichis en métaux lourds par l'épandage de boues de STEP (Berndes et al. 2004, Dickinson et al. 2009).

Enfin, les Analyses de Cycle de Vie (ACV) focalisées sur le réchauffement climatique et les émissions de GES (CH₄, CO₂ et NO₂), démontrent que **les TTCR entraînent de faibles émissions et présentent un bilan carbone favorable** (Heller et al. 2003, Schultze et al. 2009, Brandão et al. 2011). En effet, le CO₂ émis dans l'atmosphère par la combustion de la biomasse a été absorbé pendant la croissance du saule au cours des trois années précédentes, contrairement au carbone libéré par la combustion du charbon ou du pétrole. Le CO₂ émis pendant la pousse des saules est négligeable par rapport à la quantité dégagée pendant la combustion des plaquettes. Le carbone stocké dans les sols peut être équivalent ou supérieur à celui émis pendant le transport, et la mise en place des cultures (Leemans et al. 1996, Lettens et al. 2003, Volk et al. 2004, Rebelo de Mira and Kroeze 2006, Sims et al. 2006, Vande Walle

et al. 2007a). Styles and Jones (2007) revendiquent le fait qu'il s'agit alors de la source d'énergie la plus efficace pour diminuer les quantités d'émissions de GES. De plus, les rapports d'énergie sont favorables : le contenu énergétique des plaquettes de saules est en moyenne de 19 GJ/tMS (Heller et al. 2003, Lettens et al. 2003). Environ 10 GJ/ha/an d'énergie d'origine fossile servent à la production, au transport du saule et à sa conversion en électricité (Vande Walle et al. 2007b). Si les rendements fluctuent entre 10 à 12 tMS/ha/an, les TTCR peuvent fournir environ 190 GJ/ha/an. L'Efficacité Energétique (EE : Energie produite/Energie consommée) est alors de 19. A titre de comparaison, l'EE de l'essence est comprise entre 0,74 et 0,84 celle du diesel est de 0,88, celle du maïs méthanisation de 5, celle du colza huile végétale 4,5, celle du colza biodiesel 3 et celle de la betterave ethanol 2 (AILE 2007). L'Efficacité des TTCR de saules est donc 2 à 5 fois supérieure à celle d'autres cultures énergétiques annuelles. L'EE des TTCR dans la littérature est fréquemment comprise entre 20 et 30 (Goglio and Owende 2009) allant jusqu'à 50 à 80 par modélisation ou scénario théorique (Matthews 2001, Keoleian and Volk 2005). Les fluctuations s'expliquent par les différences de gestion. Plusieurs facteurs font varier le bilan d'émissions de GES et l'EE des plantations : l'apport et le type de fertilisants et de pesticides, la distance de transport des plaquettes, la technique de récolte et de séchage, le procédé de conversion énergétique. Selon les études, les limites de l'ACV ne s'étendent pas toujours jusqu'aux impacts de la fabrication des machines nécessaires à la culture ou à la fabrication des produits phytosanitaires. Par ailleurs, aucune ACV de TTCR de saules ne quantifie les impacts globaux sur les sols et sur l'eau.

Le développement d'indicateurs d'état des sols est nécessaire pour réaliser des ACV plus complètes et utiles pour améliorer la gestion des cultures.

Des indicateurs concernant l'eutrophisation ou la consommation des ressources en eau doivent être renforcés (Schultze et al. 2009). La dynamique des pools de carbone dans le

sol et les mécanismes de stockage constituent une véritable boîte noire (cf. 1.2.3). Par conséquent, la compréhension des processus internes au sol dans les bilans environnementaux ou ACV des cultures est un véritable challenge (Cherubini et al. 2009).

II.1.3. Itinéraire cultural

Les TTCR sont implantés sur des sols de types agricoles ou dégradés mais leurs installations peuvent induire de nombreuses caractéristiques forestières. Ils peuvent, par exemple, atteindre six mètres de haut avant la récolte. Cependant, par rapport à la culture du peuplier en Taillis à Courte Rotation (TCR, cycle > 10 ans), les TTCR s'intègrent plus facilement dans une exploitation car la récolte est de type agricole et le saule s'essouche peu. Les TTCR exigent l'utilisation de machines spécifiques qu'il faut importer d'Europe du Nord (planteuse et récolteuse), et le coût d'implantation est plus élevé qu'en TCR (Diemer and Labruno 2007). A l'automne avant la plantation, le sol est désherbé avec un antigerminatif (Alphacypermethrine CAS 67375-30-8) et labouré sur 20 cm. Les boutures sont plantées au printemps selon un schéma de plantation facilitant la récolte mécanisée et des rendements importants (Tubby and Armstrong 2002) (figures 1.7 et 1.8).

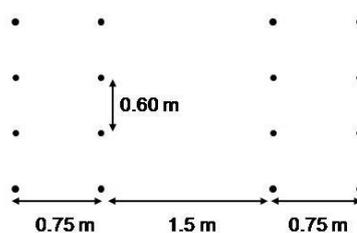


Figure 1.7 : Schéma de plantation des TTCR

Les clones utilisés en TTCR sont des hybrides de *Salix viminalis*, *S. dasyclados* et *S. schwerinii*. Les boutures, réalisées quand les bourgeons sont en dormance, sont plantées directement ou conservées dans des sacs fermés à - 2, - 4 °C. Le recépage se définit comme la coupe des tiges à 10 cm du sol pour conserver la pousse en taillis. L'élimination des adventices est nécessaire en début de cycle ou quand le taillis ne capte pas toute la lumière

disponible, favorisant le développement d'une strate herbacée. La récolte a lieu de novembre à février tous les 3 à 6 ans après la chute des feuilles suivant les conditions de ressuyage des sols. Elle s'opère soit en tiges, soit en copeaux avec une ensileuse munie d'un bec. L'exploitation ne nécessite qu'une seule plantation tous les 20 ans.

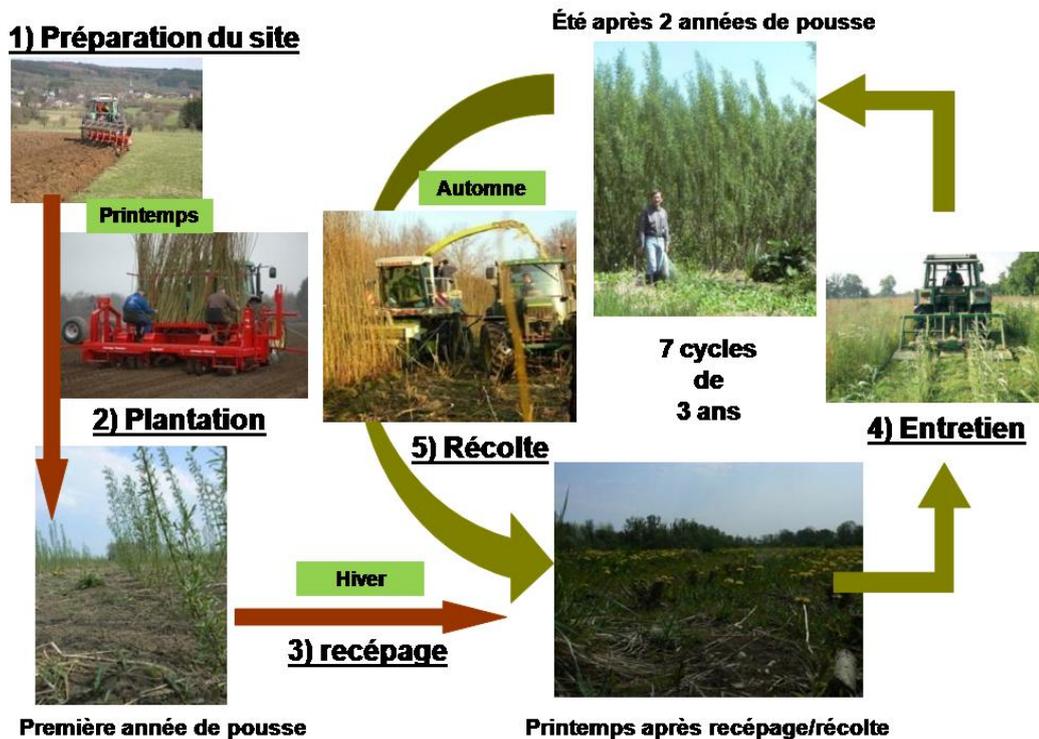


Figure 1.8 : Itinéraire culturel des Taillis à très Courte Rotation.

A la fin des cycles de culture, le retrait des souches est effectué par une sous soleuse, après application de glyphosate (acide phosphonmethyl-imino-acétique CAS 1071-83-6). Les taillis ne doivent pas être implantés sur des zones à « biodiversité élevée » (CE n°28/2009 article 17). La BCAE 2010 (Bonne Conditions Agricoles et Environnementales) donne plusieurs recommandations : les taillis sont autorisés sur les bandes tampons si les paillages réalisés sont biodégradables, l'utilisation d'herbicides est possible jusqu'à la fin de la deuxième année de culture, seul le désherbage mécanique est autorisé la troisième année du cycle. Les fortes exportations liées à ce type de culture peuvent conduire à des coûts élevés pour la fertilité des sols. Contrairement aux écosystèmes forestiers, où la diversité d'essences

permet souvent d'éviter une diminution de la productivité (colonisation d'espèces plus efficaces pour la nutrition), les cultures énergétiques sont monospécifiques et leurs productivités dépendent directement des conditions environnementales et des pratiques culturales (Gonçalves et al. 2004).

Prédire le rendement d'un site, la séquestration éventuelle du carbone ou les bénéfices écologiques des TTCR de saules paraît essentiel pour optimiser le choix des sites de plantation.

Les combinaisons sont illimitées entre les clones disponibles, les conditions pédoclimatiques des sites et les pratiques culturales (Isebrands et al. 1996). Néanmoins, le recul des pays pionniers et le projet franco-allemand ERA-NET CREFF (Marron et al. 2011) ont permis de définir les conditions les plus adaptées. Les rendements peuvent diminuer de 50 % si le sol est drainant, peu humide ou si l'humidité du sol n'est pas disponible (Tubby and Armstrong 2002). Par contre, les sols continuellement engorgés et les conditions anaérobies provoquent la mort des racines (Crow and Houston 2004), même si les saules tolèrent bien les conditions anoxiques périodiques (Jackson and Attwood 1996). Le saule tolère toutes les textures mais les productivités peuvent varier de 10 t MS ha⁻¹ an⁻¹ sur terres sablonneuses, à 35-40 t MS ha⁻¹ an⁻¹ sur terre argileuse (Jossart 2003). L'optimum se situe dans les textures fines équilibrées, limono-argileuses ou argilo limoneuses. Les déséquilibres favorisant les structures compactes et massives (taux d'argile >75%) doivent être évités (Marron et al. 2011). Le pH optimum pour le saule se situe entre 5.5 et 7 mais certains clones tolèrent des pH acides (<5) (Crow and Houston 2004). Idéalement, le terrain doit être plat avec une pente maximum de 7% et la profondeur du sol ne doit pas être inférieure à 80 cm, 1m (Sage et al. 2001). Par conséquent, **le saule se plaît souvent en fond de vallée avec une pluviométrie annuelle idéale de 600 à 1000 mm**. Dans la mesure du possible, plusieurs clones au sein d'une même plantation peuvent être plantés pour favoriser la résistance aux menaces (Begley et al. 2009, Marron et

al. 2011). Les parasites du saule sont nombreux en particulier, les *chrysomelidae* (deux espèces s'attaquent au saule, la chrysomèle bleue des osiers dont la larve se nourrit des racines, et la chrysomèle versicolore du saule qui est défoliatrice) et certaines chenilles de *noctuidae* (Sage et al. 2001). D'autres insectes peuvent endommager les plantations comme les larves de Tipules (*Tipulidae*) qui broutent des jeunes racines (les dommages sont d'autant plus importants si le champ a été désherbé et s'il n'y a que les racines de saule dans le sol) (Tubby and Armstrong 2002) ou les cicadelles, insectes piqueurs, suceurs qui s'attaquent à pratiquement tous les végétaux et représentent de formidables vecteurs de maladies virales et bactériennes. La Rouille (*melampora epitea*) peut affecter la santé des saules (Samils et al. 2003). Le liseron peut gêner la pousse et les attaques des herbivores sur les jeunes pousses (Cerfs, chevreuils et lièvres) peuvent diminuer la densité des parcelles. Enfin, la colonisation des TTCR par des bactéries glaçogènes augmenterait la sensibilité et la vulnérabilité au gel des pousses de saules et pourrait expliquer les sévères dépérissements observés au cours des dernières années dans les taillis suédois (Nejad et al. 2004). Les paramètres qui conditionnent le rendement des TTCR sont donc nombreux. Les recherches sont orientées sur le type de clone utilisé, les conditions du site (sol, climat) et les paramètres du cycle de rotation (temps, densité de plantation...) (Adler et al. 2005, Wilkinson et al. 2007, Mola-Yudego and Aronsson 2008, Ens et al. 2009). La production de nouveaux clones (pollinisation contrôlée, hybridation) pourrait réduire le coût des cultures en accroissant les rendements et en optimisant la xylochimie pour permettre un meilleur fractionnement et une conversion plus rapide dans les usines de bioraffinage (Smart et al. 2005). Le ratio d'extension, la surface finale de la feuille et son nombre de cellules sont de bons critères pour sélectionner des génotypes à haut rendement (figure 1.9). Sur 6 hybrides fréquemment plantés, « Tora » (*S. scwerinii* × *S. viminalis*) présente les meilleurs rendements (Robinson et al. 2004b). « **Tora** »

est le géotype qui a été planté par l'entreprise Salix énergie dans les parcelles étudiées dans ce travail.



Figure 1.9 : Morphologie foliaire de 6 géotypes de saules (Robinson et al. 2004a)

Si le type de sol et les conditions climatiques locales influencent les plantations, **plusieurs caractéristiques de l'itinéraire culturel sont susceptibles de modifier le fonctionnement du sol**. L'implantation des taillis donne lieu à une **vingtaine d'années de non labour** qui pourrait avoir des effets positifs sur la faune du sol (Ledin 1998, Kladivko 2001), sur l'agrégation et le stockage de C_{org} (Grandy and Robertson 2006) mais peut-être aussi des effets néfastes. En effet, les cultures sans labour peuvent émettre davantage d'oxyde nitreux (N_2O) qui est 200 fois plus efficace que le CO_2 pour absorber les rayons infra rouges (MacKenzie et al. 1998, Rochette 2008). De plus, la stratification des nutriments qui se retrouvent surtout en surface dans les cultures non-labourées peut augmenter les risques de lixiviation (Garcia et al. 2007). Un **tassement en climat tempéré avec formation d'ornières** est généré par les machines relativement lourdes de plantation et de récolte (Watts et al. 2005, Souch et al. 2004). L'introduction de plantes ligneuses sur de grandes surfaces agricoles, le désherbage des inter-rangs de saules et les fortes exportations ont des impacts sur, entre autres, la séquestration du C, le cycle des nutriments, la diversité et l'activité des organismes du sol (Minor et al. 2004, Sartori et al. 2006, Ens et al. 2013).

II.2. Ecologie et fonctionnement des sols sous des TTCR de Saules

Peu de travaux concernent l'impact des TTCR de saules sur l'écologie et les propriétés des sols. Les recherches se sont concentrées sur la biodiversité des strates de surface, la capacité potentielle des taillis pour la phytoremédiation ou pour la réduction d'émission de GES (II.1.2). Plusieurs auteurs soulignent la capacité des TTCR à séquestrer du carbone (Sartori et al. 2006, Lockwell et al. 2012) et quelques études concernent le cycle des nutriments. Cependant, Schulz et al. (2009) pointent le déficit d'informations concernant les invertébrés dans les sols sur lesquels sont implantés les saules.

II.2.1. Efficience du cycle des nutriments et fertilité

Gérés en TTCR, les essences de feuillus conduisent à des coûts élevés pour la fertilité des sols. La croissance importante des essences plantées en TTCR et leurs exigences en éléments génèrent de fortes exportations (Ledin 1998, Ceulemans and Deraedt 1999, Fox 2000). En outre, les rotations courtes favorisent la récolte de bois juvénile riche en éléments nutritifs. Le rapport est élevé entre les parties riches de la plante et les parties plus pauvres (houppier, écorce de tronc/bois de tronc). L'écorce contient en effet plus d'N, P, K, Mg, Ca, Cd, Pb, Co, Zn et plus d'eau que le bois (Adegbidi et al. 2001). Le désherbage et les récoltes, se traduisant par une mise à nu fréquente du sol, augmentent les risques de pertes d'éléments par lixiviation (Busse et al. 1996). Toutefois, plusieurs processus peuvent contrebalancer les pertes de nutriments (figure 1.10). Les arbres ont accès aux ressources profondes dans le profil du sol : ils augmentent l'altération des minéraux par la production d'exsudats acides chélateurs et diminuent la lixiviation par une évapotranspiration élevée favorisant le maintien des éléments dans le système sol (Bélanger et al. 2004).

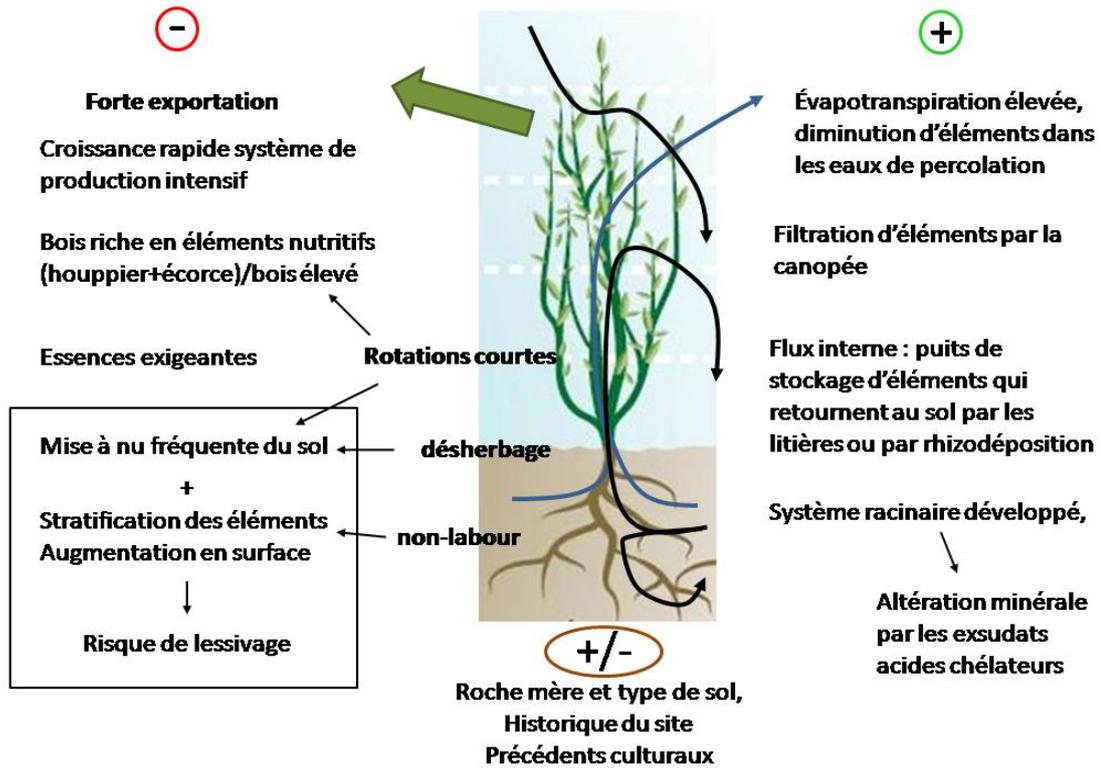


Figure 1.10 : Entrées et sorties d'éléments nutritifs dans une plantation de TCR.

L'évapotranspiration totale d'une plantation de saules, d'environ 700 mm an^{-1} est ainsi bien plus élevée que celles des autres cultures agricoles (Persson and Lindroth 1994). Par ailleurs, l'évapotranspiration peut conduire à l'abaissement de la nappe et entraîner une migration des éléments échangeables plus profondément, notamment pour Na (Ens et al. 2013). Une espèce à croissance rapide aura une plus grande surface foliaire qui peut filtrer d'importantes quantités de particules sèches par la canopée, qui retourneront au sol par ruissellement (Augusto et al. 2002). Enfin, les flux internes à l'écosystème, constituent un puits de stockage d'éléments nutritifs dans la biomasse qui retournent au sol par l'intermédiaire des litières, par rhizodéposition et turn-over racinaire (Attiwill and Adams 1993, Ens et al. 2013). Par exemple, 60 à 80% des nutriments absorbés retournent au sol par la litière dans un TCR de peupliers (Berthelot et al. 2000). L'exportation des nutriments varie toujours dans l'ordre

suivant: N>Ca>K>P>Mg, expliqué par la concentration en éléments du bois de saule (tableau 1.2 et 1.3).

Tableau 1.2 : Concentration dans le bois de différentes espèces de saules (mg/g de matière sèche), issus de parcelles non-fertilisées

	N	P	K	Ca	Mg	références
<i>S. purpurea</i>	6.4	0.87	2.1	5.2	0.75	(Ens et al. 2013)
<i>S. discolor</i>	4.4 - 5.47	0.73 - 0.83	3.37 - 4.43	2.50 - 5.63	0.43 - 0.57	(Labrecque et al. 1998)
<i>S. viminalis</i>	3.9 - 5.33	0.73	2.43 - 2.50	3.90 - 5.87	0.40 - 0.73	
<i>S. viminalis</i>	4.1 - 6.6	0.7 - 1.1	2.0 - 3.1	3.7 - 6.0	0.4 - 0.6	Jug et al. 1999a

La grande variabilité des rendements en fonction des sites s'explique par des variations de gestion (e.g fertilisation, temps de rotation, antécédents) ou de conditions pédoclimatiques (tableau 1.3). Par exemple, Rytter (2001) souligne une variation significative de l'absorption totale de nutriments avec la texture du sol : les saules absorbent plus d'azote sur des sols argileux que sableux. D'autres mesures, réalisées sur les parcelles étudiées dans ce travail, ont montré que les saules implantés sur prairies avaient une efficacité d'utilisation de l'eau plus élevée que les parcelles plantées sur maïs mais étaient également moins riches en azote (Marron et al. 2011). La fertilisation augmente les rendements et la quantité d'éléments prélevés (tableau 1.3, Hofmann-Schielle et al. 1999), qui sont corrélés aux retombées de litières (Tubby and Armstrong 2002, Guo et al. 2006). Des résultats contradictoires sont observés en fonction des schémas de fertilisation, qui n'ont parfois aucun effet sur les concentrations foliaires et sur celles du bois (Quaye et al. 2011). Labrecque et al. (1998) notent une augmentation d'N dans le bois de saule, mais pas d'effet sur les autres éléments, et Adegbidi et al. (2001) observent un effet positif de la fertilisation sur l'efficacité d'utilisation de tous les éléments sauf P. Les prélèvements et les rendements peuvent également varier en fonction du génotype de saule planté (Robinson et al. 2004b, Clinch et al. 2009). **La multiplicité des paramètres conditionnant les cycles biogéochimiques dans les TTCR de saules et certains résultats contradictoires modulent les possibilités de conclure sur l'efficacité des cycles de ce système.**

Tableau 1.3 : Exportations annuelles totales en nutriments d'exploitations de TTCR de saule avec des modes de gestions variées.

espèce ou clone de saule	parcelles (précédent cultural)	sols (roche mère)	pluvio (mm/an)	fertilisation	temps de rotation (âge)	exportation (kg/ha/an) et diminution dans les sols ($cmol.kg^{-1}$)					totale tMS/ha/an	CEC	autres flux	références et localisation
						N	P	K	Ca	Mg				
<i>S. purpurea</i> (Hotel)	9 (céréales, pépinières, maraîchage, forêt gerée, pâturage, prairie)	variés (Est du Canada)	404 à 971	X	3 ans (1 cycle)	23.8 - 3.12 $\mu g/g$	3.2 - 0.03 mg/g	7.7 - 0.11	20.2 - 2.10	2.7 - 0.30	1.8-7.6	CEC (-1.97 $cmol/kg$) 0-20 cm diminution sur 20-40 également	- 2.22 mg/g sur 0-20 cm, stable sur 20-40 cm (Ctot)	(Ens et al. 2013), est du Canada
<i>Salix dasyclados</i> (SV1)	3 : effets densité, fertilisation et irrigation	texture limoneuse, pH acide à neutre, (sable fluvio-glaciaire)	parcelles irriguées	minérale	1, 2 et 3 ans (1 cycle)	75-86	10-11	27-32	52-79	4-5	15-22			Adegbidi et al. 2001 Etat Unis
Tora, Joruun, Jor, Olof, Torhild, Bjorn, Ioden	6 (jachères)	pH 3-6, texture majoritaire limoneuse, MO élevée 3 à 8 %, C/N 9-10	parcelles irriguées	variées	3 ans ou plus (>3cycles)	75 - 12%	11 - 76%	58 - 19%	29 - 17%	4.9 - -19%	8.7	forte augmentation de la proportion du Na sur la CEC (-26 %)	- 12 g/kg MO (-27%), diminution de la teneur en nitrate dans les eaux	Willwater AILE France Bretagne
<i>salix viminalis</i> (SA)	3 (sites expérimentaux)	gleysols, cambisol et fluvisol sablo-argileux (sédiments sableux, grès rouges), pH<7	650 à 760	minérale	rotation de 5 ans (2 cycles)	18-54 - 12%	3.2-9	6-26	10-70	1-5	2.4 (control)-11.2	diminution 15% (sur 1 site)	Corge augmente (0-10cm) diminue (10-30 cm), diminution du pH de 0.5 unité	Jug et al. 1999 II, III Allemagne

Néanmoins, des tendances se dégagent:

- Les impacts les plus forts sur le bilan nutritif apparaissent sur sols acides (tableau 1.2, (Ledin 1998), où parfois, même une forte fertilisation ne suffit pas à compenser les pertes par exportation et lixiviation (AILE 2007, Jug et al. 1999 a et b).
- Les flux de retours par la litière représentent les plus gros apports d'éléments dans le sol (Berthelot et al. 2000), 80 % pour N et Ca, 60% pour Mg et moins de 50% pour K (Meiresonne et al. 2007). Les apports par dépôts secs, le lessivage par la canopée et l'altération minérale ne sont jamais quantifiés.
- Les pertes par lixiviation dans les eaux de percolation peuvent être importantes en début de plantation, en hiver et après les récoltes tandis que les quantités perdues sont infimes pendant la saison de croissance (Jug et al. 1999, Meiresonne et al. 2007, Mortensen et al. 1998). Elles concernent en particulier N et K.
- Les quantités de nitrate et ammonium dans le sol diminuent rapidement dès l'implantation du taillis, et sont anti-corrélées aux rendements des sites. L'absorption d'azote par les saules dépasse les taux de minéralisation, une **diminution chronique s'installe si aucun apport n'est réalisé** (Ledin 1998, Ens et al. 2013).
- Plus la concentration initiale en phosphore dans le sol est forte, plus la diminution est marquée (AILE 2007, Ens et al. 2013). Une évolution du P minéral vers une forme organique dans les litières et la MO du sol est fréquente après l'afforestation. Elle explique la sensibilité et le bilan négatif du P minéral (Chen et al. 2000). **Une fois le cycle interne en place, le recyclage du P par les litières est généralement efficace** (Quaye et al. 2011).
- L'exportation de K ne suffit pas à expliquer sa diminution. Des pertes importantes par lixiviation sont constatées : K^+ est plus mobile et présente moins d'affinités que le Ca^{2+}

pour le complexe argilo-humique. D'autre part, les retours par litière sont faibles, le cycle interne est peu efficace (Meiresonne et al. 2007, Ens et al. 2013).

- Na diminue en surface et augmente en profondeur, la diminution du niveau de la nappe entraîne un mouvement des sels solubles en profondeur et Na est peu prélevé par les saules (AILE 2007, Ens et al. 2013).
- Dans son ensemble et dans la majorité des cas, la CEC diminue dès le premier cycle s'il n'y a pas de fertilisation (Jug et al. 1999, Ens et al. 2013).

Les bilans doivent être précisés pour estimer les pertes et la dynamique spatio-temporelle des nutriments (quid du long-terme et de la profondeur du sol) en fonction du type de sol et des réserves minérales. Néanmoins le cycle semble relativement efficace pour P, Ca, Mg et Na alors que N et K semblent être rapidement limitants.

Le cycle des éléments a été plus étudié en contexte multifonctionnel (production de biomasse et traitement d'eau usée ou recyclage de déchet) avec application des boues ou de divers effluents. Les parcelles de TTCR étudiées lors de cette thèse n'ont subi aucune fertilisation après la plantation des saules. Elles constituent donc un bon modèle d'étude de l'évolution de la fertilité des sols calcaires soumis à de fortes exportations.

II.2.2. Synthèse des pratiques visant à maintenir le fonctionnement du sol

Plusieurs pratiques ont été envisagées pour palier aux pertes de fertilité. Des apports minéraux (N, P, K, Ca, Mg, S), organiques (e.g fumures, paillis d'herbes), l'épandage de boues de stations d'épuration ou la fertirrigation avec des eaux usées industrielles prétraitées augmentent considérablement les rendements (Šlapokas and Granhall 1991, Fang et al. 2008, Dimitriou and Aronsson 2011). Les intrants permettent de maintenir les rendements mais les effluents d'irrigation peuvent contenir du sodium et le saule l'exporte peu. Le rapport Na^+/CEC doit être maintenu en dessous de 12% (AILE 2007). L'azote est un des facteurs

limitant dans de nombreux sites. Cependant, un apport avant la reprise des boutures ou les mois suivant la coupe conduisent parfois à des pertes par lixiviation des nitrates (Mortensen et al. 1998, Balasus et al. 2012). Des pratiques de gestion plus intégrées limitent la nécessité d'apports extérieurs. La littérature fait mention d'améliorations dans la qualité du sol et d'une hausse de C_{org} quand les inter-rangs sont végétalisés avec des légumineuses ou des céréales plutôt que désherbés (Lal 2004). L'exploitation de TTCR de saules, conduit avec un élevage d'animaux en liberté (e.g cochons, poules) où les déjections animales fertiliseraient *in situ* la plantation et enrichiraient les pools labiles de carbone, permettrait de réduire nettement le bilan d'émission de GES de l'exploitation (Jørgensen et al. 2005). Enfin, la proportion d'écorce est constante au delà de 20 mm de diamètre (pour le rameau ou la tige). Le cycle de trois ans est donc adapté mais il est conseillé de récolter uniquement les tiges, et de laisser les rameaux les plus fins se décomposer au sol, pour favoriser le retour des éléments nutritifs. Toutefois, cette pratique est peu compatible avec la mécanisation (Adler et al. 2005). D'autre part, la diversité de la faune, de la flore et du paysage peut être préservée par la juxtaposition dans l'espace (effet mosaïque) de TTCR d'âges variés et l'implantation de bouquets d'arbres et de rangées de haies permanentes pour constituer des zones refuges (MacIntosh and Bell 2001).

II.2.3. Dynamique du cycle du carbone sous TTCR

La décomposition et l'accumulation de la MO dans les sols se font de façon concomitante (figure 1.11). Comme souligné précédemment, un sol, sous un aménagement donné, peut atteindre un équilibre qui lui est propre où les taux d'apport et de minéralisation de la MO sont égaux (Haynes 2005). Une perturbation dans le système sous forme de changement d'aménagement ou de pratique agricole peut rompre cet équilibre. La quantité de C_{org} dans le sol fluctue jusqu'à ce qu'un nouvel équilibre soit atteint et qui correspond à une nouvelle teneur de carbone dépendant de l'antécédent cultural, de l'espèce plantée, de la

texture du sol (taux d'argiles en particulier), des pratiques culturales et de la zone climatique (Six et al. 2002, Lal, 2004, Nair et al. 2009, Laganiere et al. 2010). Les arbres tendent à accumuler le carbone en surface avec les retombées de litière et ont une meilleure proportion de racines en profondeur qu'une végétation herbacée. Par conséquent, l'afforestation donne une redistribution du C du sol, à la fois en profondeur dans le profil et à la surface (Jobbagy and Jackson 2000).

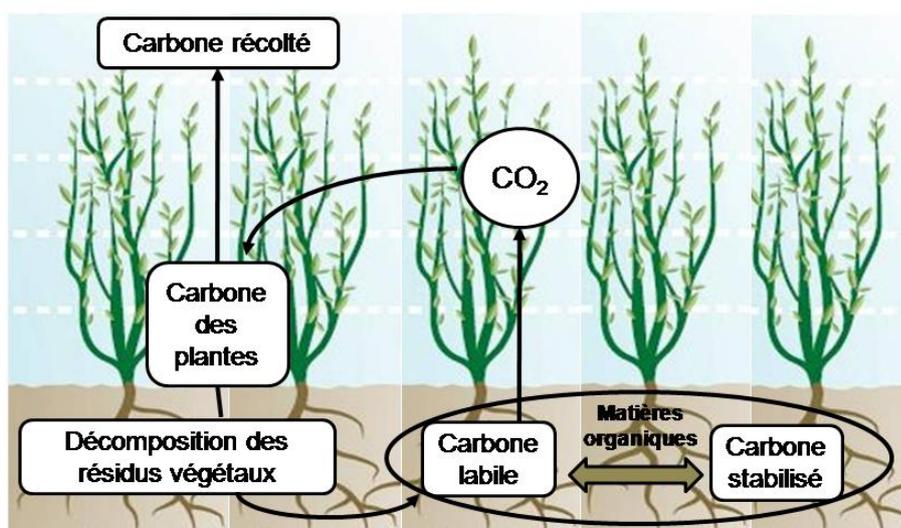


Figure 1.11 : Cycle du carbone dans une plantation de TTCR.

Le retour à l'équilibre suivant l'afforestation en TTCR se fera-t-il à la hausse ou à la baisse ? Quels processus peuvent conduire à une séquestration du carbone ?

Théoriquement, les TTCR de saules peuvent séquestrer du carbone pour de multiples raisons :

(i) la quantité de litière qui tombe au sol est élevée, 1 à 5 t.ha⁻¹ en moyenne et peut

contribuer au maintien d'un haut niveau de carbone dans ces systèmes (Boman and Turnbull

1997, Zan et al. 2001) **(ii) Les saules possèdent un vaste réseau de racines fines** qui

représentent plus de 30% de la biomasse racinaire totale (Rytter and Hansson 1996). Le

système racinaire s'établit tôt et se renouvelle sur un cycle court d'environ un an (Nadelhoffer

et al. 1985, Rytter and Rytter 1998) qui peut s'accélérer avec les recépages (Zan et al. 2001).

Les racines fines du saule sont responsables d'environ 40% de la production primaire nette

souterraine (Rytter 2001). L'apport de MO provenant de racines fines mortes dépasse souvent la quantité apportée par les litières (Vogt et al. 1986). Parallèlement, ces mêmes racines fines associées au mycélium des champignons ectomycorhiziens élaborent des exsudats carbonés. Ce flux de nécromasse fongique et d'exsudats est la voie dominante (62%) d'enrichissement de C_{org} du sol dans des plantations de peupliers (Godbold et al. 2006). Ces entrées de C_{org} dans le sol peuvent dépasser celles provenant des résidus de la biomasse aérienne dans la plupart des cultures arborées et herbacées (Zan et al. 2001, Sartori et al. 2006). L'importance du flux de MO apporté au sol par les exsudats racinaires, par les turn over d'hyphes mycorhiziens et racinaires a sûrement été minimisé dans les processus de stockage du C, d'autant que cet apport intervient directement aux endroits où la MO peut être stabilisée (profondeur, contact direct avec les argiles) (Pregitzer et al. 2000, de Neergaard et al. 2002, Chenu 2013). **(iii) le travail de la terre très léger** (un labour initial) et l'utilisation de machinerie uniquement tous les trois ans peuvent favoriser la séquestration du C_{org} (Balesdent et al. 2000, Hellebrand et al. 2010). **(iv) le changement qualitatif des litières** peut avoir des conséquences sur le taux de minéralisation et favoriser la séquestration du carbone. La concentration en azote des feuilles, les taux de décomposition des litières, la composition des cires (proportion d'acide gras, d'n-alcool, d'n-aldéhyde et d'n-alcane), ou des chaînes lipidiques varient en fonction des génotypes de saules (Weih and Nordh 2005, Puttsepp et al. 2007, Teece et al. 2008, Jandl et al. 2012). Cependant, de manière générale, l'apport de litière de saule sur sols arables provoque une augmentation des lignines, des lipides à longues chaînes. Toutes les litières de saules sont riches en tanins et composés phénoliques qui retardent la vitesse de décomposition des feuilles. Ces composés sont lixivés après la décomposition des feuilles et sont hautement adsorbés dans les sols (Schofield et al. 1998). Ces modifications chimiques entraînent une augmentation du C/N et parfois une diminution du pH sur les dix premiers cm du sol (Jug et al. 1999a, Jug et al. 1999b).

Dans de nombreuses études, une perte généralement rapide de C_{org} est observée suite à une afforestation (Hansen 1993, Bashkin and Binkley 1998, Paul et al. 2002, Cowie et al. 2006, Mao and Zeng 2010). D'une part, les plantes nouvellement établies développent prioritairement leurs racines structurales, qui ont une longue durée de vie et fournissent, initialement, très peu de résidus végétaux. Les racines fines seront favorisées plus tard (Rytter and Hansson, 1996, Pregitzer et al. 2000). Par ailleurs, le travail du sol (labour, utilisation de machinerie, etc.) peut augmenter la minéralisation microbienne (Sartori et al. 2006). Le sol perd du C_{org} par une faible accumulation de résidus carbonés et un grand taux de décomposition. La teneur de C_{org} revient au niveau antérieur à la plantation d'arbres, environ une dizaine d'années plus tard lorsque les mécanismes de stockage du C_{org} du sol se sont rétablis (Huntington 1995, Jug et al. 1999b, Mao and Zeng 2010). Par la suite, quand la production primaire augmente, une augmentation graduelle de la teneur en carbone peut être observée (Paul et al. 2002). La littérature rapporte des taux de séquestration envisageables compris entre 0 et 4.5 tonnes de C_{org} /ha/an (Zan et al. 2001, Sartori et al. 2006) et dépendant de l'usage antérieur. La quantité stockée est plus importante quand la culture est implantée sur des sols dont la teneur en C a été appauvrie à des niveaux faibles par l'aération annuelle avec des labours profonds. Si le taillis est implanté sur prairies ou pâturages, sa fonction de puits de carbone ne sera pas efficace et dépendra d'autres facteurs (e.g la teneur en argile, le climat) (Grogan and Matthews, 2002, Guo and Gifford 2002, Lemus and Lal, 2005, Laganier et al. 2010). Les variations des profondeurs de stockages observées en fonction des études indiquent que les mécanismes en cause peuvent être différents selon les sites. Kahle et al. (2010) observent une séquestration de C_{org} surtout en surface (0-30 cm) sous des plantations de saules âgées de 15 ans et une accumulation qui se situait plus profondément (30-60 cm) pour les plantations de peupliers. Mao and Zeng (2010) constatent également une accumulation graduelle de C_{org} à des profondeurs de 45-60 cm, suite au boisement de terres

agricoles marginales cultivées de façon conventionnelle (labour, irrigation, fertilisation) depuis plus de 100 ans. Par opposition, Dowell et al. (2009) démontrent que l'accumulation du carbone, suite à l'implantation de TTCR de peupliers en sols agricoles, s'effectue généralement dans l'horizon de surface. Jug et al. (1999b) décèlent que le boisement de terres cultivées avec un mélange de trembles, de saules et de peupliers en Allemagne provoquait un gradient de C_{org} après 7 à 10 ans, avec une plus forte concentration de C_{org} en surface et une plus faible en profondeur. La séquestration du carbone est donc significativement plus élevée dans les TTCR que dans des sols arables plantés avec des cultures annuelles, mais cette séquestration reste inférieure à celle d'une forêt mature (Boman and Turnbull 1997). Les modifications de distribution du carbone dans le profil de sol vont modifier les propriétés physiques du sol qui, sous TTCR, sont très peu étudiées. Une diminution de la densité et une augmentation de la porosité et de la rétention d'eau ont été observées dans des parcelles de saules et de peupliers au nord de l'Allemagne (Cambisols) (Kahle et al. 2005). Dans le futur, les clones pourraient être sélectionnés selon un nouveau paradigme, pour obtenir des espèces végétales allouant plus de biomasse aux racines et favoriser la séquestration de carbone (Lal, 2009). Le couplage de l'application de biochar avec les TTCR est également une piste pour répondre à cette fonction (McCormack et al. 2013).

**Sur sols appauvris, les TTCR constituent des puits potentiels de carbone.
Les quantités stockées et la répartition du carbone en profondeur sont variables.
Une meilleure compréhension des mécanismes est nécessaire pour choisir des sites
appropriés dans une stratégie de stockage du C.**

II.2.4. Impact de la culture de TTCR sur les organismes du sol

Dès les années 90, Makeschin (1992, 1994) attire l'attention sur le manque de prise en compte des critères écologiques dans les systèmes de production intensive de biomasse. Une

vue complète et globale des conséquences écologiques de la production de bois énergie est nécessaire en particulier sur le long terme afin de produire une énergie renouvelable et compétitive avec les combustibles fossiles. L'itinéraire cultural des TTCR de saules requiert très peu d'intrant (II,1,3). Les saules sont seulement replantés tous les 10 à 20 ans (selon la santé des plantations, les réglementations nationales, le marché du bois). Ces longues périodes de culture en rotation, sans labour, permettent aux systèmes racinaires de se développer amplement. Par conséquent, ce système de culture peut favoriser certains processus écologiques influençant la qualité du sol comme la séquestration du carbone, la modification des matières organiques (II,2,2) et du cycle des éléments nutritifs (II,2,1). Ces modifications vont avoir des effets sur les organismes du sol qui sont des régulateurs du cycle des nutriments et de la décomposition des MO et qui peuvent offrir une protection contre les pathogènes et les maladies et favoriser la nutrition des saules.

Makeschin (1994) montre une augmentation des opilions (genre d'araignée) et des cloportes après la conversion de terres arables en TTCR. L'abondance des carabes et araignées (Araneida) diminue sans toutefois affecter leur diversité. Les communautés de mille-pattes (chilopodes et diplopodes) ne sont pas modifiées après la conversion. En revanche, l'abondance et la diversité des acariens sont négativement affectées par la mise en place du TTCR, puis elles ré-augmentent avec le temps de plantation (Minor et al. 2004). L'abondance lombricienne est également stimulée par les taillis (Makeschin, 1994, Lagerlöf et al. 2011) (figure 1.12). Les communautés de micro-organismes sont également influencées : L'arrêt du travail du sol a augmenté la biomasse microbienne dans l'horizon de surface mais l'a diminuée en profondeur (Makeschin 1994). La diversité des champignons saprophytes dans la rhizosphère dépend de la variété de saules cultivés dans les plantations de TTCR (Šlapokas and Granhall, 1991, Baum and Hryniewicz, 2006).

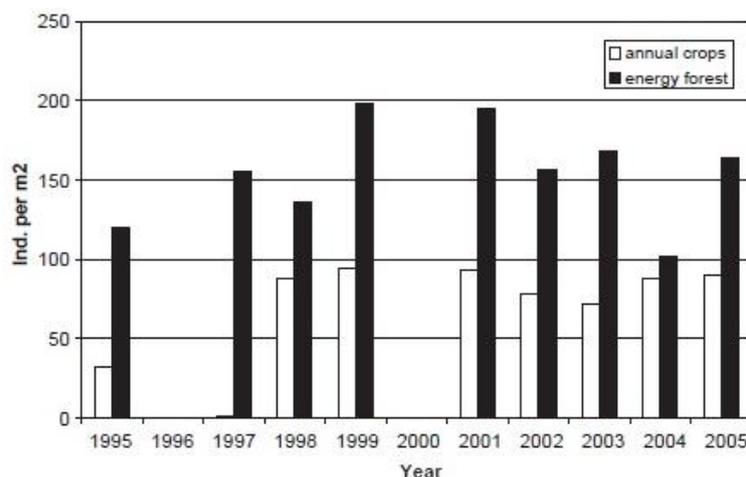


Figure 1.12 : Abondance totale de vers de terre dans une culture énergétique (noir) et dans un champ agricole planté avec une culture annuelle (blanc) (Lagerlöf et al. 2011).

Peu d'études concernent les populations bactériennes des plantations. En revanche, de nombreuses recherches se sont concentrées sur les champignons mycorhiziens des parcelles. La formation d'ectomycorhizes (ECM) serait favorisée par l'augmentation de C_{org} dans l'horizon de surface (Kahle et al. 2005, Becklin et al. 2012). Les Fagaceae, Myrtaceae et Salicaceae peuvent former des associations mycorhiziennes avec les deux types de champignons, les ECM et les mycorhiziens à arbuscules (MA) (Lodge 1989, Molina et al. 1992). La colonisation mycorhizienne du saule varie considérablement entre les génotypes et dépend également des paramètres environnementaux, des propriétés du sol (e.g humidité, disponibilité en nutriments) (tableau 1.4). L'association symbiotique s'effectue principalement avec les champignons ectomycorhiziens, la symbiose MA étant généralement inférieure à 5% (van der Heijden 2001, Püttsepp et al. 2004). Des espèces ectomycorhiziennes des genres *Lactarius*, *Cortinarius*, *Entoloma*, *Hebeloma*, *Laccaria*, *Russula*, *Inocybe*, *Tuber*, *Paxillus*, *Tomentella* et *Tricholoma* peuvent mycorhizer les saules, avec des spécificités d'hôte entre espèces de saules et espèces de champignons (Khasa et al. 2002, Gehring et al. 2006, Püttsepp et al. 2004, Baum et al. 2009a). Le potentiel endomycorhizien est élevé dans les sols agricoles (si la fertilisation phosphatée n'est pas trop élevée) là où la proportion de basidiomycètes est plutôt faible. Les ECM se développent après l'introduction de plantes-

hôtes. L'introduction d'arbres sur sols agricoles pourrait avoir des effets écologiques importants en modifiant la diversité microbienne. Les basidiomycètes étant les principaux décomposeurs des composés récalcitrants de la litière végétale, des changements dans leur diversité peuvent modifier la dynamique de décomposition de la MO (Watling et al. 1982).

Tableau 1.4 : Mycorhization de différentes espèces de saules par ECM et MA.

espèces de saules	remarques	sol	% colonisé par	
			ECM	MA
<i>Salix viminalis</i> (Püttsepp et al. 2004)	Plantation estonienne, block 16m × 16m, fertilisation avec N, P, K	Gleyic Podzoluvisol	75% (6 taxons)	–
<i>Salix dasyclados</i> (Püttsepp et al. 2004)			94% (11 taxons)	–
<i>Salix sachalinensis</i> (Hashimoto and Higuchi 2003)	plaine inondable de la rivière Satsunai (Japon)	Prédomine sur sols graveleux secs	augmente pendant de fortes pluies (typhon) 20-->40% (sols secs) 20-->36% (sols humides)	< 1%
<i>Chosenia arbutifolia</i> (Hashimoto and Higuchi 2003)		Prédomine sur sols sableux humides		< 1%
<i>Salix Repens</i> (van der Heijden 2001)	Très répandu en Europe de l'ouest. Etude sur boutures en pot, en décembre faible P (N/P=13) et en mars, P haut (N/P=5)	types de sols variés, habitats influencés par le vent et les fluctuations d'eau. Sol pauvre en nutriments	<i>Hebeloma leucosarx</i> 70%	<i>Glomus mosseae</i> < 5%

La colonisation mycorhizienne modifie le métabolisme carboné de la plante, en augmentant le transfert du carbone vers l'ensemble du système racinaire (Gobat et al. 2010). Les champignons utilisent ce C pour la construction de nouvelles structures fongiques ou pour la sécrétion d'exsudats. Ils contribuent donc, à plus ou moins long terme, à enrichir le pool de carbone organique du sol (Kahle et al. 2005). Cette symbiose joue un rôle central dans l'agrégation du sol, l'apport nutritionnel, la santé des plantes, la tolérance à la sécheresse, la protection contre les pathogènes. Elle stimule l'activité microbienne et la diversité biologique (Zhu and Michael Miller 2003, Olsson and Johnson 2005, Van der Heijden et al. 2008, Rooney et al. 2009) (figure 1.13). Par exemple, les mycorhizes forment des interactions symbiotiques avec d'autres organismes du sol affectant l'écologie du sol et la biodiversité

(e.g. mycorrhiza helper bacteria et les PGPR, plant growth-promoting rhizobacteria) (Frey-Klett et al. 2005, Zimmer et al. 2009, Hryniewicz et al. 2010).

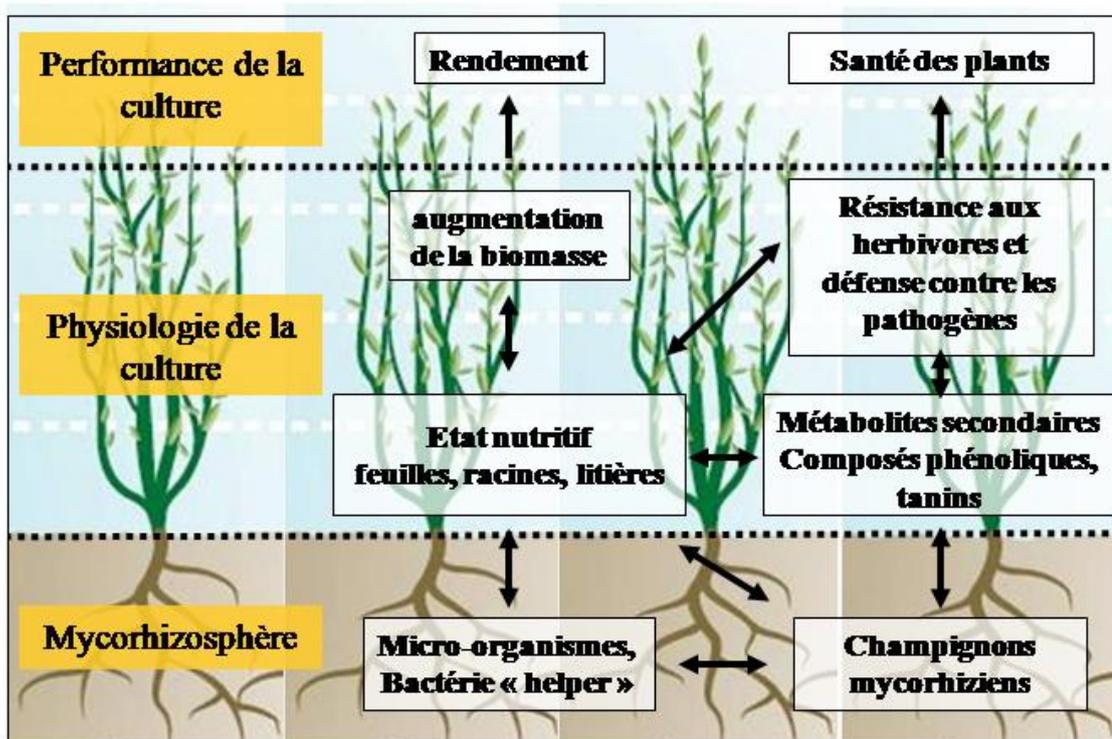


Figure 1.13 : Effets potentiels de la mycorhization sur les TCR de saules (Rooney et al. 2009).

L'effet des deux types de mycorhization sur la croissance des plantes en TCR semble différer dans le temps. La symbiose MA semble primordiale dans l'établissement des jeunes plants (Hashimoto and Higuchi 2003), *Glomus mosseae* a un effet bénéfique pendant les 12 premières semaines sur l'absorption de nutriments et la croissance alors que *Hebeloma leucosarx* a un effet bénéfique sur du long terme (van der Heijden 2001). Le pourcentage de colonisation par ECM augmente quand les concentrations en MO et N sont élevées et faibles en P et K et quand le pH du sol est faible (Püttsepp et al. 2004, van der Heijden 2001). Cependant, l'effet d'un apport en azote sur la mycorhization de saules en culture de TCR peut être plus variable. La fertilisation augmente ou réduit la colonisation mycorhizienne racinaire : celle-ci dépendrait du type de sol ou d'autres caractéristiques du site (Baum et al. 2002). La faible disponibilité en azote du sol est un facteur limitant majeur de la croissance des saules mais aussi de la croissance des champignons. Le champignon ECM peut favoriser

l'absorption d'azote de l'arbre mais aussi être en compétition avec son hôte pour cet élément et ralentir la croissance des plantations (Baum et al. 2009b).

Selon ces mêmes auteurs, ce n'est pas l'intensité de la mycorhization mais l'identité du champignon qui détermine les effets sur la croissance des saules et la chimie foliaire. Cette dernière est également dépendante de l'influence des caractères génétiques de l'hôte et de la réserve nutritive du sol (Hayashi et al. 2005, Heiska et al. 2005). Les modifications de chimie foliaire liées à la mycorhization influencent la résistance aux ravageurs (figure 1.13) et peuvent également affecter la décomposition de la litière et modifier la dynamique des nutriments (Baum et al. 2009b). La production de sidérophores, de phosphatase acide ou d'auxines par les ECM dans la rhizosphère semble contribuer à la suppression de certains pathogènes et/ou favoriser la croissance des plantes (Hryniewicz et al. 2010). Ces paramètres ou ces processus peuvent être envisagés pour sélectionner des champignons ectomycorhiziens pour l'inoculation des plantations de TTCR.

Le degré de mycorhization des TTCR et la diversité fongique semblent être inférieurs à ceux des peuplements naturels adjacents (Toljander et al. 2006) et l'inoculation des parcelles avec des ECM peut augmenter significativement la production de biomasse de saule (van der Heijden, 2001, Baum et al. 2006, Toljander et al. 2009). Bien que l'association plante-champignon ait été observée dans de nombreuses cultures de saules ou de peupliers (Baum et al. 2002, Khasa et al. 2002, Püttsepp et al. 2004), les informations sur son rôle fonctionnel dans les TTCR sont peu nombreuses. L'importance des interactions et les principaux facteurs d'efficacité de la symbiose mycorhizienne sur la pousse des saules et sur les caractères chimiques de leurs parties aériennes restent obscurs (Baum et al. 2009b). Le rôle de la mycorhizosphère en interactions avec de nombreux organismes (communautés bactériennes ou faune du sol) sur la résistance des cultures ouvre un large champ de recherche

pour la bioprotection des plantations pour la production de biomasse (Quoreshi and Khasa 2008, Vestergård et al. 2008, Rooney et al. 2009).

Ainsi, les plantations de saules en TTCR ont un impact direct sur l'écologie des sols. Les saules modifient le cycle des nutriments et du carbone. Ces changements dans les traits fonctionnels des végétaux et l'hétérogénéité des sources de C, sélectionnent les décomposeurs (Coleman and Whitman 2005). La culture modifie les communautés microbiennes et la colonisation mycorhizienne, provoque des changements d'abondance et de diversité dans la faune du sol.

La compréhension des interactions complexes multitrophiques est indispensable pour la mise en place et la gestion durable les plantations de TTCR. Elle est également cruciale pour la régulation des autres processus écosystémiques.

Bien que l'effet des cultures ait été déterminé sur de nombreux taxons, les données concernant les communautés microbiennes sont rares ou inexistantes. Et les effets sur les groupes écologiques de vers de terre n'ont jamais été déterminés.

III. Conclusion: État des connaissances et recherche à développer.

Les fonctions des sols, essentielles à la vie de l'écosystème Terre, sont maintenant bien reconnues. Parallèlement, les pressions anthropiques sources de dégradation des sols, dont certaines sont irréversibles, se sont multipliées et diversifiées. L'usage des sols, à des fins de production végétale, s'élargit pour répondre tant à des productions alimentaires ou des productions de matériaux qu'à des fins énergétiques. La production de bois énergie par la mise en place de TTCR est une des nouvelles techniques et pratiques culturelles qui se développent. L'impact de ces cultures sur les cycles nutritifs et sur le fonctionnement et la qualité des sols doit être précisé. Très peu d'études concernent l'impact des TTCR sur les propriétés biologiques et biochimiques des sols. Des questions apparaissent qui se rapportent au

maintien des propriétés, fonctions et services des sols au cours et en fin de cycle de TTCR. Ces cultures sur des cycles de 20 ans avec des récoltes tous les trois ans sans fertilisation ni traitement sauf à la mise en place de la plantation peuvent en effet entraîner des modifications des caractéristiques des sols : perte de fertilité, impact sur les organismes et perte ou évolution de la diversité fonctionnelle, perturbation des cycles biogéochimiques...Il y a donc lieu de définir ces impacts pour évaluer les dangers, voire définir des risques, proposer des indicateurs de qualité à l'aide de paramètres pertinents. Pour disposer d'outils de diagnostic, de gestion, de remédiation, la recherche et la validation d'indices de qualité liés à la fertilité, aux activités biologiques et biochimiques, aux structures des communautés fonctionnelles apparaissent d'un grand intérêt. C'est là un chantier majeur pour progresser dans la connaissance et la gestion des sols.

IV. Objectifs de la thèse

L'objectif de ce travail était de quantifier l'impact de la culture de TTCR de saules sur les caractéristiques et le fonctionnement du sol, et d'autre part de mettre au point une méthodologie permettant d'évaluer la qualité des sols en intégrant leur fonctionnement biodynamique en contexte d'exportation intensive suite à un changement d'usage vers un TTCR. Pour répondre à cet objectif, l'évolution temporelle du sol a été évaluée sous quatre parcelles de TTCR comparées à 3 autres usages des sols, des bandes enherbées, un agrosystème planté en culture annuelle et une forêt alluviale. Des prélèvements et des mesures ont été effectués régulièrement sur un ensemble de dix parcelles localisées sur quatre sites, comprenant quatre couples de TTCR et bandes enherbées, une forêt alluviale et un agrosystème. Cet ensemble a permis d'évaluer l'état initial et l'évolution des sols en analysant des paramètres choisis pour leur implication majeure dans le fonctionnement biologique et biochimique des sols. Les parcelles sont localisées dans la vallée de l'Aisne, (Département

des Ardennes) sur le même type de sol, avec les mêmes conditions climatiques, et présentent des âges différents de plantation pour appréhender le facteur temps et l'effet des cycles de culture.

Dans une première partie, sur les quatre parcelles d'un des sites étudiés, les mesures effectuées sur plusieurs paramètres reflétant les caractéristiques physico-chimiques et biologiques du sol, ont permis (1) d'identifier ceux qui étaient affectés par les différents usages et pouvaient être proposés comme indicateurs de qualité, et (2) de positionner le TTCR au sein d'un gradient de pression anthropique (agrosystème conventionnel, TTCR, bande enherbée et forêt alluviale) (Chapitre 3, Stauffer et al. 2014). Dans le chapitre suivant (4^{ème} chapitre, Stauffer et al., à soumettre), un suivi temporel de ces paramètres au cours de quatre saisons a été réalisé et des indices de qualité du sol permettant la quantification des fonctions de fertilité, d'activité biologique et d'habitat pour les communautés biologiques ont été calculés. Des indicateurs, relatifs à l'impact, à ce jour peu ou pas connu, des TTCR sur les communautés biologiques (structure des communautés microbiennes, groupes écologiques des vers de terre), ont été évalués sur l'ensemble des parcelles des quatre sites, pour déterminer les variations contextuelles et génériques de ces bioindicateurs (chapitre 5). Les influences des antécédents culturels et du temps ont été discutées dans ce chapitre.

Chaque méthode de mesure de la qualité du sol pouvant comporter des biais, l'ensemble des paramètres sélectionnés comme indicateurs de qualité des sols dans les chapitres précédents a ensuite été agrégé de deux manières différentes pour estimer la qualité des sols (Chapitre 6): par le calcul d'indices de qualité (méthode utilisée dans le chapitre 4) et par des courbes de réponses principales.

De nombreux paramètres biologiques étaient corrélés aux matières organiques. La concentration en MO était le paramètre qui avait le plus de poids dans la valeur des indices établis pour évaluer la qualité des sols. Nous avons alors proposé et voulu vérifier l'hypothèse

que des indicateurs liés aux matières organiques pourraient être utilisés comme proxy de l'activité biologique et permettre ainsi une évaluation rapide de la qualité du sol sous des TTCR. Le chapitre 7 a ainsi pour objectif de comparer trois techniques d'analyses quantitatives et qualitatives des matières organiques sous les TTCR et de définir la capacité des paramètres liés aux matières organiques à servir d'indicateurs de qualité des sols.

Les bilans entrées-sorties d'éléments nutritifs dans les sols sont un indicateur fiable permettant d'évaluer l'influence de pratiques sylvicoles sur l'évolution de la fertilité des sols. Ainsi dans le 8^{ème} et dernier chapitre dédié aux résultats de nos travaux nous nous sommes concentrés sur la répartition des éléments dans l'écosystème sol-plante des TTCR et sur les flux de retour et de prélèvement au sol. Le bilan établi devrait permettre d'appuyer certains résultats et proposer des améliorations de l'itinéraire cultural des taillis.

Les résultats des différents chapitres sont ensuite synthétisés et discutés dans le dernier chapitre de conclusions générales qui propose aussi de nouvelles hypothèses et perspectives.

Chapitre 2. Matériel et Méthodes

I. Dispositif expérimental

I.1. Choix des sites d'études

Un suivi d'impact d'une culture sur la qualité des sols nécessite des informations sur l'état initial et l'historique des parcelles et/ou des systèmes comparatifs de référence pour pouvoir évaluer les changements. Dans l'objectif d'évaluer la qualité du sol sous TTCR de saules, la région d'étude devait donc comporter plusieurs parcelles d'âges différents et des systèmes témoins. La possibilité d'obtenir des informations sur l'état initial des parcelles a également été un critère de choix. Cependant, la maîtrise totale des facteurs édaphiques ou historiques pouvant interférer avec l'organisation et le fonctionnement de l'interface sol-végétation n'est évidemment pas réaliste dans une étude *in situ*. Nous avons donc cherché à minimiser leur incidence en utilisant les bandes enherbées adjacentes aux parcelles de saules comme systèmes comparatifs. Ainsi, les conditions stationnelles (climat, position topographique, type de sol) sont similaires. De plus, pour chacun des systèmes l'historique des parcelles est connu. Deux autres systèmes comparatifs, un agrosystème conventionnel et une ripisylve, ont été choisis pour mesurer l'éloignement des TTCR vis-à-vis d'un fonctionnement agricole classique.

I.2. Présentation des sites

I.2.1. Contexte pédoclimatique

Les parcelles choisies pour étudier l'impact de la culture de saule sur le fonctionnement du sol sont situées dans les Ardennes (08). Une dizaine de parcelles ont été plantées en TTCR dans la vallée de l'Aisne (autour de Rethel), au cours des années 2006, 2007 et 2008. L'Aisne, avec une longueur totale de 335 km, arrose le Sud du département sur 140 km. Venue du département de la Meuse, elle entre dans les Ardennes à Condé-les-Autry,

traverse Vouziers, Attigny, Rethel et Asfeld avant de les quitter pour se jeter dans l'Oise près de Compiègne. La vallée présente des conditions pédoclimatiques favorables au développement du saule. Le climat est océanique teinté d'une nuance froide continentale. Les précipitations annuelles sont de l'ordre de 700 à 1000 mm. Les températures moyennes des mois de janvier et juillet sont respectivement de 1,8°C et 17,8°C à Rethel.

1.2.2. Caractéristiques des parcelles choisies.

Quatre sites, (Semuy, Amagne, Givry, Asfeld) bien accessibles et peu distants les uns des autres, ont été choisis, qui permettaient d'étudier 4 parcelles de TTCR, les quatre bandes enherbées correspondantes, une parcelle cultivée et une parcelle de ripisylve (figure 2.1). Les parcelles de TTCR présentent l'avantage d'avoir été plantées par le même opérateur : Salix Energie. Il s'agit de deux parcelles plantées en mars 2008 (Asfeld, Amagne) et deux plantées en mars 2006 (Semuy, Givry) avec la variété Tora de saule (*Salix schwerinii* x *S. viminalis*). Elles sont localisées dans la plaine alluviale de l'Aisne, sur la « champagne crayeuse ». Le choix des parcelles a été réalisé en fonction de leur âge, de l'état des saules et de l'homogénéité du sol afin de favoriser les comparaisons et l'interprétation des résultats. Sur le site de Semuy, à côté de la parcelle de TTCR, une parcelle laissée en agrosystème conventionnel est utilisée comme système comparatif. Une ripisylve (F) et les Bandes Enherbées (BE), situées entre chaque parcelle de TTCR et l'Aisne ou le fossé le plus proche sont également utilisées comme « témoins » (figure 2.1, 2.2 et tableau 2.1). Les caractéristiques spatiales des quatre parcelles de TTCR de saules sont présentées dans l'annexe 1.

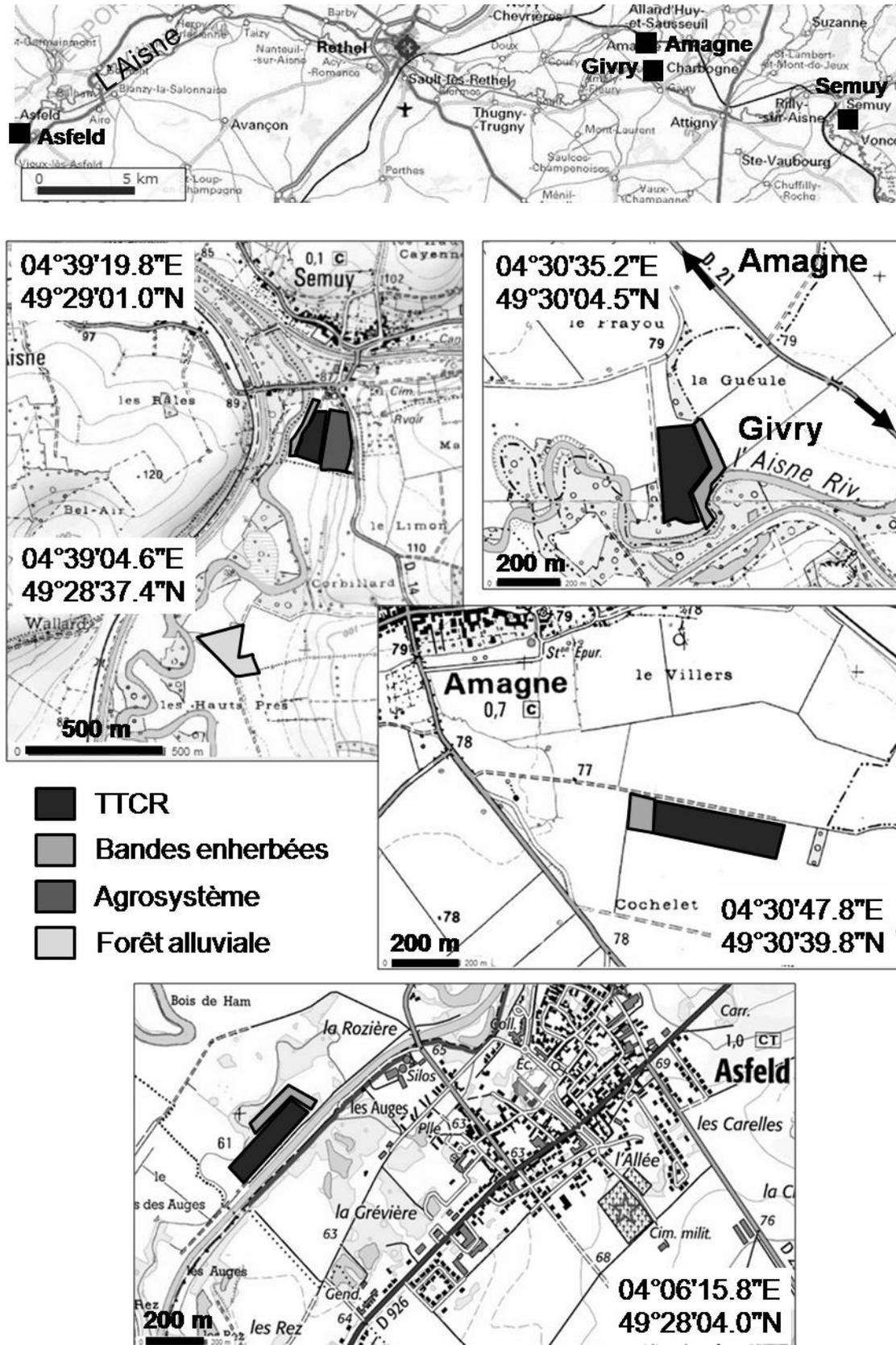


Figure 2.1 : Localisation des quatre sites et des parcelles choisies pour l'étude. Les coordonnées sont celles du centre des parcelles de TTCR ou celle de la ripisylve.

Tableau 2.1 : Caractéristiques des quatre sites et des parcelles choisies pour l'étude.

sites	Amagne		Asfeld		Givry		Semuy			
	TTCR Amagne	BEama	TTCR Asfeld	BEasf	TTCR Givry	BEgiv	TTCR Semuy	BEsem	A	F
Plantation	Mars 2008	1992	Mars 2008	1992	Mars 2006	2006	Mars 2006	2006	–	–
Précédent	jachère	cultures	jachère	cultures	maïs	maïs	maïs	maïs	maïs	ripisylve
Surface Ha	4	–	2.8	–	2.7	–	3.3	–	3.5	–
Intrants	antiG		antiG	–	antiG	–	antiG	–	NPK, pesticide	–
Date de récolte	Nov-11	–	Nov-11	–	Nov 2008 et 2011	–	Nov 2008 et 2011	–	août-sept annuelle	–
Rendements (tMS/ha/an)	3.0	–	12.1	–	9.2 et 6.7	–	8.5 et 6.6	–	?	–
Ecosystèmes	pâturages, TCR peupliers		jachères, ripisylve, canal, bosquet, TCR peupliers, bras mort de l'Aisne		pâturage, bosquets, haies, TCR de peupliers		cultures, ripisylve (saules dominant, strate arbustive diversifiée), pâturages			

antiG : antigerminatif

	1992	2006	mars 2008	nov 2008	mai 2010 T0	nov 2010 T1	mai 2011 T2	nov 2011 T3	mai 2012 T4	Usage actuel	
Semuy	Forêt All	-----								Forêt All	
	Cultures	Maïs	Blé	----- Blé/Maïs -----							Agrosystème
	Cultures	Maïs	TTCR	32 mois	8.5	36 mois		6.6			TTCR
	Cultures	Maïs	BE	-----							BEsem
Givry	Cultures	Maïs	TTCR	32 mois	9.2	36 mois		6.7			TTCR
	Cultures	Maïs	BE	-----							BEsem
Asfeld	Cultures	Jachère	-----		TTCR	44 mois		10.4			TTCR
	Cultures	Jachère	-----		BE	-----					BEasf
Amagne	Cultures	Jachère	-----		TTCR	44 mois		2.6			TTCR
	Cultures	Jachère	-----		BE	-----					BEama

Figure 2.2 : Evolution temporelle des usages du sol sur les sites étudiés et correspondance avec les cinq temps d'échantillonnage (T0 à T4). Les chiffres indiquent les rendements des parcelles de TTCR en tonnes de matière sèche/ha/an. (forêt all : forêt alluviale ; BE : Bande Enherbée ; TTCR : Taillis à Très Courte Rotation)

L'agrosystème est labouré sur 20 cm chaque année et reçoit environ 130, 65,115 kg/ha/an de N, P, K. Un insecticide et trois fongicides sont appliqués au printemps (deltaméthrine: CAS 52918-63-5, prochloraze: CAS 67747-09-5, fenpropidine: CAS 67306-00-7). Un antigerminatif (Alphacyperméthrine CAS 67375-30-8) a été appliqué sur les parcelles de saules juste après la plantation des boutures.

1.2.3. Sol des parcelles

Les parcelles sont plantées sur des fluvisols calcaires développés sur les alluvions quaternaires récents (pléistocène) de l'Aisne. Ils sont issus de l'altération de roches calcaires. Ces sols sont donc calciques et très riches en argiles et limons fins. En été, des fentes de dessiccation profondes et larges apparaissent : elles se referment en période humide. Les labours provoquent une prise en masse, en période humide, de l'horizon travaillé, et une tendance à durcir après évaporation. Ces sols sont donc difficiles à travailler (figure 2.3).

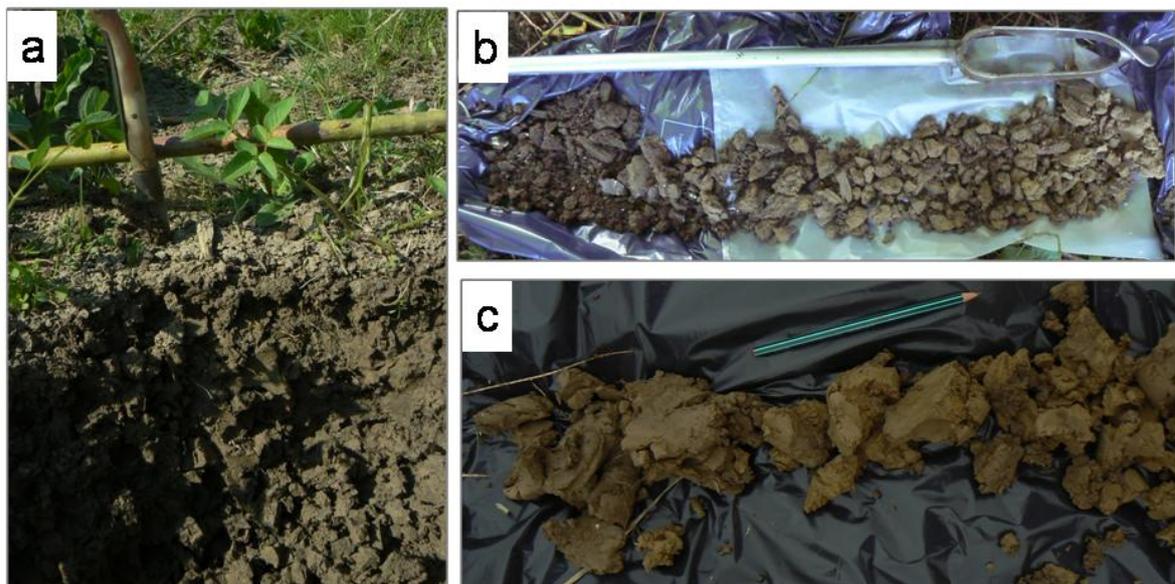


Figure 2.3 : Photos illustrant les profils de sol des parcelles étudiées. a. structure prismatique de l'horizon Ap de Semuy. b. profil du sol sous la ripisylve. c. horizon Ap d'Asfeld.

Une structure polyédrique/prismatique anguleuse est bien visible en saison humide. Des signes d'hydromorphie peuvent exister à 70 cm de profondeur à Amagne. Les sols sont

relativement jeunes et peu différenciés (A ou Ap/B/C). Les prélèvements des profils du sol ont été réalisés à la tarière en Avril 2009 pour les TTCR et les BE, en septembre 2010 pour la ripisylve et l'agrosystème. Les analyses physiques et chimiques de sol ont été réalisées au Laboratoire d'Analyses des Sols d'Arras, selon des protocoles normalisés : texture en 5 fractions (argile < 2 μm (A), limons fins 2-20 μm (Lf), limons grossiers 20-50 μm (Lg), sables fins 50-100 μm (Sf) et sables grossiers 200-2000 μm (Sg) (NF X 31-107), teneur en carbone et matières organiques (Corg et MO) (Traitement carbone par correction calcaire NF ISO 10694), teneurs en carbone et azote total (Ctot et Ntot) (NF ISO 10 694 et 13 878), teneur en calcaire (CaCO_3) (NF ISO 10 693), CEC et cations échangeables à la cobaltihexamine (spectrocolorimétrie NF X 31 – 130 et ICP-AES méth. INRA), teneurs en phosphore disponible (P Olsen) (NF ISO 11 263) et phosphore total (ICP-AES NF ISO 11 885). Les analyses sont présentées dans le tableau 2.2, excepté les cations échangeables qui sont présentés dans les parties résultats. Les sites présentent des différences notables : le sol des parcelles d'Amagne est décarbonaté tandis que l'agrosystème sur le site de Semuy présente des teneurs en calcaire supérieures aux autres sites. Le pH eau varie respectivement entre 6.6 et 7.7 dans l'horizon de surface. Les teneurs en éléments fins (A+Lf) sont élevées sur tous les sols. Elles sont de 53% dans l'agrosystème et varient entre 73 à 79% sur les autres parcelles de Semuy, y compris la ripisylve, et présentent des valeurs autour de 60% sur le site de Givry. Les sites d'Asfeld et Amagne présentent les valeurs les plus élevées, respectivement (83 à 85% et 96%).

1.2.4. Données climatiques

Des données météorologiques journalières (pluviométrie, température minimale, maximale et moyenne, l'humidité relative moyenne et la durée d'insolation) ont été fournies par Météo France, provenant de la station n°08401001 située à Saulces-Champenoises (49°25'24''N, 40°29'30''E).

Tableau 2.2 : Caractéristiques physiques et chimiques des parcelles de TTCR (Semuy, Givry, Asfeld et Amagne) et des systèmes comparatifs (Bandes enherbées BE, Agrosystème et Ripisylve). (Argiles A < 2 µm, Limons fins Lf 2 -20 µm, Limons grossiers Lg 20-50 µm, Sables fins Sf 50-100 µm et Sables grossiers Sg 200 2000 µm). Les fractions granulométriques sont exprimées en %, les paramètres liés aux matières organiques, carbone total, P_{olsen} et le CaCO₃ sont exprimées en g/kg. La CEC est exprimée en cmol+/kg et le P_{tot} en g/100g. Les analyses ont été réalisées sur les sols prélevés en avril 2009, sauf l'agrosystème et la ripisylve prélevés et analysés en septembre 2010.

		fraction granulométrique après décarbonatation %					Matières Organiques g/kg					Réserve en éléments			Propriétés générales		
		A	Lf	Lg	Sf	Sg	C _{org}	MO	C _{tot}	N _{tot}	C/N	P _{Olsen}	P _{tot}	CEC	CaCO ₃	pH _{eau}	pH _{KCl}
Agrosystème	Ap	32	21	35	10	2	25.8	44.6	57.1	2.4	10.7	0.07		21.1	261	7.7	7.6
	B	33	21	34	10	1	13.7	23.7	52.7	1.3	10.6	0.06		17.5	325	7.9	7.8
Ripisylve	A	56	24	12	8	1	78.8	136	87.1	6.5	12.1	0.06		57.9	69.2	7.5	7.0
	B	50	29	17	4	0	22.1	38.2	32.5	2.3	9.7	0.02		37	86.5	7.6	7.2
Semuy	Ap	49	26	15	7	2	28.6	49.5	42.9	3.0	9.5	0.05	0.20	38.6	119	7.6	6.8
	B	46	31	15	7	1	18.7	32.4	35.3	2.1	9.1	0.03	0.20	34.2	50	7.7	6.9
BE Semuy	A	50	23	16	10	1	35.7	61.8	41.7	3.6	9.9	0.02	0.17	41.5	138	7.3	6.7
	B	50	24	17	10	0	17.8	30.9	25.7	2.1	8.6	0.01	0.13	38.3	66	7.6	6.7
Givry	Ap	41	22	20	14	3	14.7	25.4	39.7	1.4	10.4	0.07	0.30	25.7	209	7.6	7.0
	B	45	24	20	10	1	11.4	19.7	29.2	1.3	9.0	0.04	0.20	30.2	149	7.5	6.9
BE Givry	A	39	22	22	16	0	20.9	36.2	34.2	2.0	10.4	0.06	0.20	29.6	110	7.4	6.8
	B	40	20	23	17	1	11.0	18.9	24.4	1.3	8.8	0.02	0.18	29.4	112	7.5	6.9
Asfeld	Ap	59	26	10	4	1	32.6	56.5	45.9	3.4	9.6	0.10	0.31	41.5	110	7.3	6.8
	B	61	25	11	3	0	25.5	44.2	38.4	2.8	9.1	0.07	0.27	41.5	107	7.4	6.8
BE Asfeld	A	58	27	13	2	0	32.1	55.6	44.9	3.4	9.4	0.11	0.31	41.5	106	7.3	6.7
	B	55	28	14	3	0	16.6	28.7	30.8	1.9	8.9	0.03	0.20	36.1	118	7.5	6.7
Amagne	Ap	71	24	3	1	1	30.3	52.5	30.5	3.3	9.1	0.08	0.20	55.9	1	6.6	5.7
	B	72	24	3	1	0	22.3	38.6	22.5	2.6	8.5	0.02	0.15	56.3	2	7.0	6.0
BE Amagne	A	71	24	3	1	0	31.9	55.2	33.7	3.5	9.1	0.11	0.23	58.4	15	7.4	6.8
	B	73	23	3	1	0	17.9	31.1	21.2	2.1	8.4	0.04	0.15	58.3	27	7.7	6.8

I.3. Échantillonnage du sol et des racines

L'échantillonnage a été réalisé de manière saisonnière en dehors des opérations agricoles comme les apports d'engrais ou l'épandage de fumier qui sont susceptibles d'avoir une influence à court terme sur la microflore. La fin de l'automne ou le début du printemps sont les moments les plus appropriés pour la collecte d'échantillons (Stenberg 1999). A ces moments, l'activité biologique est la plus forte. Toutes les parcelles ont été échantillonnées 5 fois au même moment, aux printemps (fin avril, début mai) 2010 (T0), 2011 (T2) et 2012 (T4) et à l'automne (octobre ou début novembre) 2010 (T1) et 2011 (T3). Sur chaque parcelle (TTCR, BE, agrosystème, ripisylve), et à chaque prélèvement, 3 échantillons composites sont constitués à l'aide de 10 prélèvements à la tarière (Horizon A ou Ap, profondeur 15cm) selon une grille en diagonale (figure 2.4a).

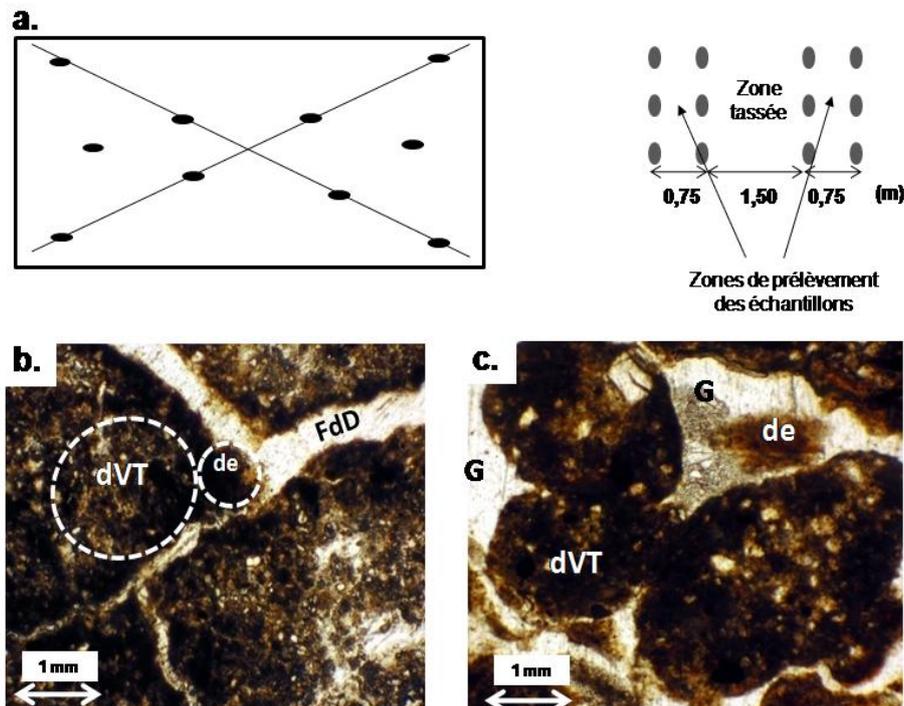


Figure 2.4 : Schémas illustrant le plan d'échantillonnage sur chaque parcelle (a.) et photos micromorphologiques des zones tassées (b.) et non tassées (c.) sur la parcelle de Semuy après la première récolte (déjection de Vers de Terre dVT, déjection d'enchytréide de, Fente de Dessiccation FdD, Galerie G) (Stauffer 2009).

La tarière permet de maintenir une profondeur d'échantillonnage constante. Le schéma de plantation des taillis implique la répétition du passage des machines agricoles au même endroit. Sur une parcelle, le sol va donc être tassé de manière hétérogène. Des ornières sont visibles après seulement un cycle de culture (une récolte). Sur les parcelles de TTCR les prélèvements sont réalisés dans les inter-rangs non tassés (figure 2.4). Sur les mêmes points de prélèvements, des racines sont échantillonnées et constituent également 3 réplicas composites par parcelle. Le sol adhérent aux racines a été utilisé pour les extractions d'ADN. Une partie des sols est conservée à 4°C pour les mesures d'activités microbiologiques, une partie est placée à -80°C avant extraction d'ADN. Le reste des sols est séché à l'air ambiant sur du papier puis broyé à 2 mm à l'aide d'un moulin à broyage à la Station expérimentale de valorisation des matières premières et des substances résiduelles (STEVAl, UMR LEM CNRS-Université de Lorraine) à Vandoeuvre les Nancy. Les racines sont lavées, congelées puis broyées dans un mortier en porcelaine à l'aide d'azote liquide avant extraction d'ADN.

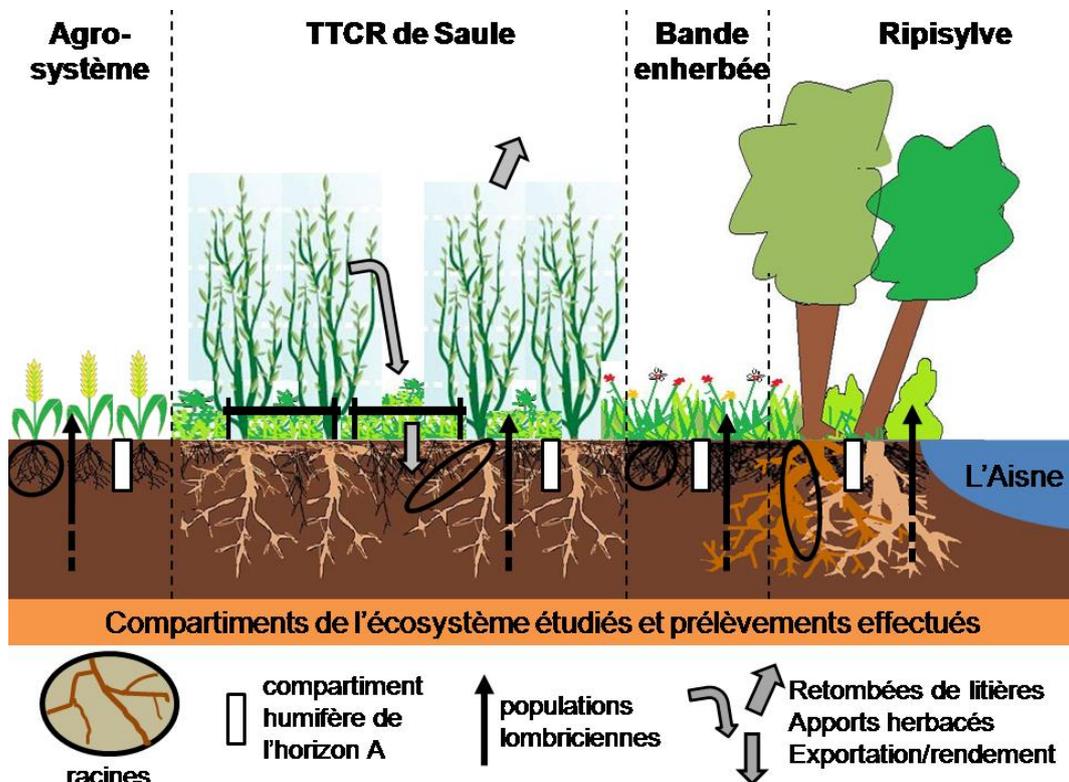


Figure 2.5 : Schémas synthétisant les prélèvements réalisés sur chaque usage du sol. Les parcelles d'agrosystème conventionnel et de forêt alluviale sont échantillonnées sur le site de Semuy uniquement. Les populations lombriciennes ont été prélevées aux automnes.

Les populations lombriciennes, les litières de saule et les strates herbacées des parcelles ont également été échantillonnées. L'ensemble des prélèvements et échantillonnages réalisés sont synthétisés sur la figure 2.5. Les détails des protocoles sont donnés ci-après.

II. Paramètres mesurés.

Les paramètres suivis ont été choisis de manière à évaluer certaines fonctions fondamentales ou services écosystémiques rendus par le sol. L'ensemble des indicateurs doit rendre compte de l'état du sol (fertilité, texture, biodiversité) et des flux permettant une résilience de celui-ci face aux pressions anthropiques ou climatiques. Une combinaison entre des indicateurs d'impact (structure des communautés, indice de diversité, teneur en matière organique, densité etc.) et des indicateurs fonctionnels (activités enzymatiques, respiration, nitrification etc.) permet donc de faire le lien entre : les pratiques culturales, l'état du sol et son fonctionnement. Pour les indicateurs dont les résultats sont fortement dépendants des conditions météorologiques (indicateurs biologiques et microbiologiques), les prélèvements sur les sites étudiés et sur les systèmes comparatifs ont été faits en même temps à quelques heures d'intervalle maximum. Les paramètres analysés sur les différents échantillons prélevés aux différents temps sont rappelés dans le tableau de l'annexe 2.

II.1. Paramètres liés aux propriétés chimiques, physico-chimiques et à la fertilité

II.1.1. Matière organique, Ntot, éléments disponibles et CEC

Les méthodes utilisées pour l'analyse de paramètres chimiques au cours du temps ont été présentées et citées dans la partie « sol des parcelles » (§ I.2.3). Elles sont réalisées sur les horizons de surface des sols des quatre parcelles de saules, des quatre bandes enherbées et sur

les sols de la forêt et de l'agrosystème à chaque prélèvement (T0 à T4). L'agrosystème et la forêt n'ont cependant pas été échantillonnés à T0, 144 échantillons ont donc été analysés.

II.1.2. Azote minéral ($N-NO_3^-$, $N-NO_2^-$ et $N-NH_4^+$)

Les mesures des teneurs en azote minéral, $N-NO_3^-$, $N-NO_2^-$ et $N-NH_4^+$ ont été réalisées lors de la détermination de la nitrification basale. Le protocole a été adapté de Christ et al. (2002). Seuls les sols prélevés à l'automne 2010 (T1) des parcelles de TTCR et BE de Semuy et Givry, et de la forêt et de l'agrosystème de Semuy, soit 18 échantillons ont été analysés. Sur chaque échantillon de sol, trois répétitions du dosage ont été effectuées. Les mesures d'azote minéral, $N-NO_3^-$, $N-NO_2^-$ et $N-NH_4^+$ ont donc été faites 54 fois. Les différents constituants minéraux de l'azote sont extraits à l'aide d'une solution de KCl 0.02 M dans un rapport sol/solution de 1/10. Après 60 min d'agitation mécanique rotative (40 tr/min), la suspension est centrifugée pendant 20 min à 3500 tr/min (centrifugeuse Thermo Heraeus Multifuge 1S-R), et les extraits sont ensuite filtrés à 0.2 μm (Keeney and Nelson 1987). Les nitrates et nitrites (NO_3^- , NO_2^-) sont dosés par chromatographie ionique (ICS 3000 DIONEX, détection conductimétrique par colonne AS11-HC, utilisant l'éluant KOH à 25°C, à un débit de 1.3 mL/min). L'ammonium est dosé en colorimétrie à l'aide des réactifs Ammonia Salicylate Reagent (HACH n°23952-66) et Ammonia Cyanurate Reagent (HACH n°23954-66). L'ion ammonium réagit avec du salicylate, du nitroferrocyanure pour former en milieu alcalin un complexe salicylate ammoniacal dont l'absorbance à 690 nm est proportionnelle à la concentration d'azote ammoniacal. Une gamme de 0 à 750 μM d' NH_4^+ obtenue à partir d'une solution de NH_4Cl à 0,033 g/L a été utilisée comme étalonnage.

II.1.3. pH

Les pH eau et KCl ont été mesurés sur tous les sols, en automne 2010 (T0). Les sols étant bien tamponnés, les analyses n'ont pas été répétées. Pour la mesure du pH_{eau} (2/5), 20g

de terre (< 2mm) sont pesés puis versés dans 50 mL d'eau déminéralisée. Le mélange obtenu est agité pendant quelques minutes puis laissé à reposer pendant 2h. La mesure du pH est réalisée dans le liquide surnageant avec l'électrode (Bioblock Scientific) du pH-mètre (TACUSSEL électronique PHN 81). 20g de terre (< 2mm) sont également pesés pour mesurer le $pH_{KCl} (2/5)$ puis mis en suspension dans 50 mL de solution de chlorure de potassium (74.5 g/L). Le dosage est réalisé avec le même pHmètre.

II.1.4. Humidité du sol

Le pourcentage d'humidité est mesuré sur tous les échantillons de sols, soit 114 échantillons. Ils ont été récupérés dans le même volume, sont pesés humides, puis placés 48h dans une étuve à 105°C. Quand ils ne perdent plus de masse, le poids de sol sec est mesuré et le pourcentage d'humidité est obtenu par différence.

II.2. Paramètres d'activité biologique

II.2.1. Activités enzymatiques

Les enzymes sélectionnées dans cette thèse ont été choisies pour représenter les principales voies de dégradation de la matière organique. L'activité globale a été dosée par mesure de l'hydrolyse de la fluorescéine diacétate (FDA). Ce substrat pouvant être hydrolysé par un grand nombre d'enzymes comme les protéases, les estérases, les lipases, et sa dégradation permet d'avoir une mesure des activités enzymatiques globales dans les sols (Green et al. 2006). Deux enzymes étudiées sont impliquées dans le cycle de l'azote : la leucine amino-peptidase et l'uréase. La phosphatase alcaline (cycle P) et trois enzymes impliquées dans le cycle du carbone (la cellobiohydrolase, les laccases et la β glucosidase) ont également été suivies. La mesure des différentes activités a été adaptée de protocoles existants, l'activité des laccases a été mesurée d'après Floch et al. (2007) le protocole pour les

activités des cellulases, β glucosidase, phosphatase alcaline et leucine aminopeptidase a été adapté à partir de (Marx et al. 2001). La mesure de l'uréase s'est opérée selon (Sinsabaugh et al. 2000, Klose and Tabatabai 1999). Les activités enzymatiques ont été mesurées pour un premier essai fin août 2010 puis lors du prélèvement T1 à T4 sauf pour les deux enzymes impliquées dans le cycle de l'azote, dont l'activité a été suivie aux trois derniers temps seulement (T2, T3 et T4). Les mesures d'activités biologiques des parcelles d'Amagne (TTCR et BE) n'ont pas été réalisées à T3. L'ensemble des enzymes étudiées ainsi que les produits utilisés pour le dosage de leurs activités sont décrits dans le tableau 2.3. Pour chaque sol, des essais ont été réalisés pour travailler en concentrations saturantes de substrats (figure 2.6).

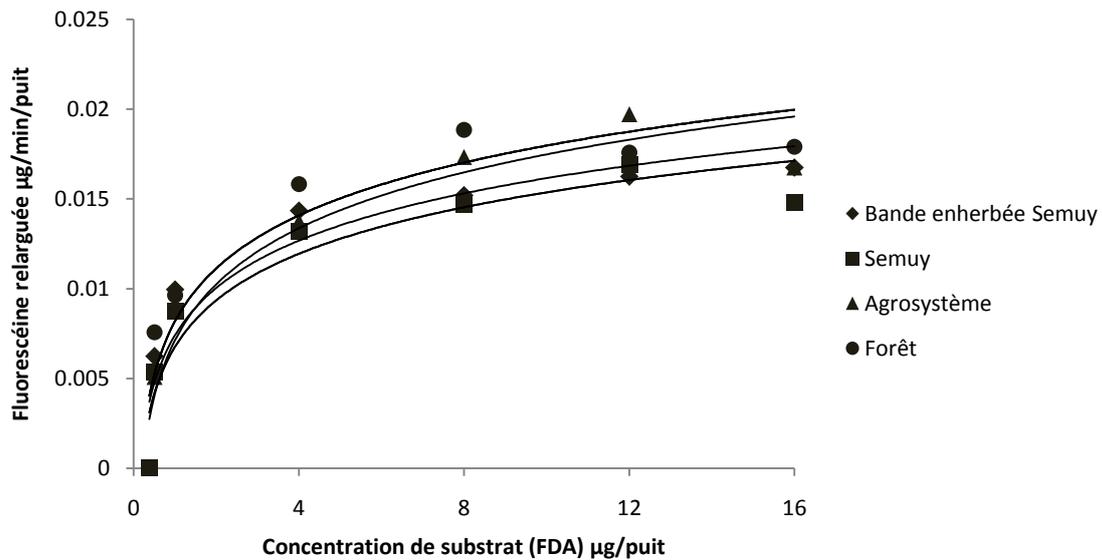


Figure 2.6 : Courbe permettant de définir les concentrations saturantes en substrat pour l'activité d'hydrolyse de la FDA dans les sols du site de Semuy.

Des essais ont également été réalisés pour adapter le temps d'incubation des mesures d'activité uréase et phénol-oxydase. L'activité des autres enzymes a été suivie sur des cinétiques de 6h minimum. L'activité est calculée avec la pente, en phase linéaire de la courbe (concentration de fluorochrome = f(temps)). Nous utilisons ici, pour les activités enzymatiques, des conditions optimales de température et pH, tout en restant à l'humidité in

situ pour prendre en compte la variabilité des différents usages du sol dans le maintien de l'humidité de l'horizon de surface. La mesure des activités s'effectue de la façon suivante : les sols utilisés sont conservés à 4°C. Avant chaque mesure, des suspensions de sols sont réalisées : 2.5 g de sol frais sont suspendus dans 50 mL de tampon approprié pour chaque enzyme (Annexe 3: Tampons utilisés pour les mesures d'activité Enzymatique) puis agités dans un agitateur orbital (Stuart Scientific SI50) à 250 rpm pendant 10 min. Ils sont ensuite soniqués pendant 2 min (la sonication permet de solubiliser les enzymes fixées au complexe argilo-humique ou simplement à la fraction minérale du sol). Six replicats de mesure sont ensuite réalisés : un petit volume (25, 100 ou 400 µL en fonction des activités mesurées) de la suspension de sol est placé dans des microplaques à 96 puits (Greiner bio-one, Ref 655076 pour les activités mesurées par fluorescence ou Ref 655096, microplaques à fonds transparents pour les activités mesurées en absorbance). Pour finir, la solution de substrat est ajoutée. Les microplaques sont placées à l'obscurité à 28°C. Les mesures de fluorescence sont réalisées toutes les heures avec un spectrophotomètre (Safas Monaco Xenius SP2000 XC). Les longueurs d'ondes utilisées pour les mesures sont résumées dans le tableau 2.3. Un certain nombre de précautions ont été prises pour l'ensemble des protocoles (De Forest 2009) : des témoins ont été préparés sans sol afin d'évaluer la fluorescence non induite par le contact avec le sol. La conservation des échantillons de sol devant servir aux analyses enzymatiques s'est toujours faite à 4°C et n'a pas dépassé 2 semaines. L'agitation et la sonication des suspensions de sol n'ont jamais dépassé 20 min. Les solutions mères de standard et de substrat ont été refaites à chaque dosage. Les mesures d'activités en fluorescences sont compatibles avec la norme afnor 2010, XP ISO/TS 22939. Les protocoles détaillés des mesures d'activités enzymatiques sont présentés en annexe 4.

II.2.1. Respiration basale

La respiration microbienne basale a été mesurée en suivant le protocole de Wardle et al. (1993) avec quelques modifications. Pour chaque échantillon de terrain, de T1 à T4 (114 échantillons, car Amagne et sa bande enherbée n'ont pas été mesurés à T3) 3 réplicats de mesure étaient réalisés, par conséquent 342 flacons d'incubation de mesure de respiration basale ont été mis en place. 25g de sol frais, laissés à l'humidité *in situ* étaient placés dans un flacon d'incubation stérile de 250 mL et fermé avec un bouchon en caoutchouc vissé avec une virole en aluminium. Les flacons étaient incubés à 28°C dans l'obscurité pendant trois jours. La respiration basale : C-CO₂ émis dans l'atmosphère des flacons au cours de la minéralisation des matières organiques sans addition de glucose, était mesurée quotidiennement sur un prélèvement de 5 mL de ladite atmosphère, par spectrophotométrie infrarouge (BINOS 1004 Gaz analyser). La respiration microbienne est exprimée en mg C-CO₂.h⁻¹.g⁻¹ de sol sec. Le CO₂ absorbe les radiations IR à 2325.6 cm⁻¹. Un coefficient de minéralisation des matières organiques est calculé avec le C_{org} des échantillons : les teneurs de CO₂ sont transformées en taux de minéralisation du carbone (en ‰ du carbone organique total)

$$C - CO_2 (\text{‰}) = CO_2 (\text{vpm}) \times 22.86 \times \frac{V_{\text{flacon}} (\text{mL})}{1000} \times \frac{12}{22.4} \times \frac{1}{\text{sol (g)} \times C_{\text{org}} (\%)}$$

Tableau 2.3 : Enzymes extracellulaires étudiées, avec leurs substrats, standards et tampons correspondants pour contrôler leurs activités potentielles.

Enzymes	Cycles	EC	Tampons	Substrats	Mesures (nm)	Standards	Référence	
Laccase (Phenol Oxidases)	Carbone	EC 1.10.3.2	Acetate 50 mM pH 5	2,2'-azinobis(-3 ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diamonium salt ABTS (A1888)**	Absorbance	418	La quantité d'ABTS formée est mesurée avec la loi de Beer Lambert ($\epsilon_{420} = 36\,000\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$)	Floch et al. 2007 adapté
Cellulase		EC 3.2.1.91	Phosphate 0.1M pH 7.5 MES 0,1M à PH 6 Trizma 0,05M à pH 8	4-MUB- β -D-cellobioside (M6018)**	Fluorescence	330 excitation 450 emission	4-Methylumbelliferone (MUB) (M1381)**	Marx et al. 2001 adapté
β Glucosidase		EC 3.2.1.21		4-MUB- β -D-glucopyranoside (M3633)**				
Phosphatase alcaline	EC 3.1.3.1	4-MUB-phosphate (M8883)**						
Leucine Amino-Peptidase	Azote	EC 3.4.11.1		L-Leucine-7-amido-4-methylcoumarin (L2145)**		342 excitation 440 emission	7-amino-4-methylcoumarin (AMC) (A9891)**	
Uréase		EC 3.5.1.5	Eau ultrapure	Urée	Absorbance	670	NH ₄ Cl	Sinsabaugh et al., 2000 / Klose & Tabatabaï, 1999.
Hydrolyse de la FDA	Activité globale	EC 3.1.1.x	Potassium Phosphate 60 mM pH 7.6	Fluorescein Diacetate [3',6'-diacetylfluorescein (FDA)] (F7378)**	Fluorescence	490 excitation 523 emission	Fluorescéine (F2456)**	Green et al. 2006 adapté

EC, enzyme commission classification; MUB, methylumbelliferyl

* $\epsilon_{420} = 36\,000\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$

** Sigma no.

II.2.2. Nitrification Basale

La mesure de la nitrification basale a été réalisée sur les prélèvements de sol d'automne 2010 (T1) et seulement sur les parcelles de Semuy et Givry (les deux TTCR et BE, ripisylve et agrosystème) à raison de 3 répétitions par échantillon, soit 54 mesures. Cinq g de sol sec de l'horizon AP ou A, sont mis à incuber dans des flacons sérum de 250 mL fermés hermétiquement. L'incubation est réalisée à l'obscurité en conditions contrôlées : température 28°C et humidité 80% de la capacité au champ (ISO 11274) sur une période de 30 jours. Un témoin abiotique (autoclavé 2 fois à 24h d'intervalle) est mis en place pour chaque type de parcelle. Tous les 7 jours, les flacons sont ouverts pendant 60 minutes pour renouveler l'air et l'humidité est ajustée. Les différentes formes d'azote minéral (NO_3^- , NO_2^- et NH_4^+) ont été extraites et dosées (cf. II.1.2) à T0 et T30 jours. L'azote minéral est exprimé en $\mu\text{g NO}_3^{-1} \cdot \text{g dry soil}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$. Le taux de nitrification est calculé de la manière suivante : $\text{N-NO}_3^- / (\text{N-NO}_3^- + \text{N-NH}_4^+)$ (%).

II.3. Paramètres liés aux communautés microbiennes et à la faune

II.3.1. Quantification et analyse de la structure des communautés microbiennes

Les communautés fongiques et bactériennes ont été quantifiées par PCR en temps réel de T0 à T4 sur les quatre parcelles de TTCR et les quatre bandes enherbées, et de T1 à T4 sur l'agrosystème et la ripisylve. La structure des communautés a été analysée aux cinq temps pour les champignons totaux, à T0 et T1 pour les bactéries et à T0, T1 et T2 pour les champignons endomycorhiziens. La fréquence et l'intensité de l'endomycorhization des racines ont été estimées à T0 uniquement ainsi que le nombre de spores de champignons par g de sol. Une identification de plusieurs champignons ectomycorhiziens a été réalisée sur des

racines prélevées en juin 2011. L'ensemble des analyses sur les communautés microbiennes est synthétisé dans la figure 2.7. Les détails des méthodes sont présentés ci-après.

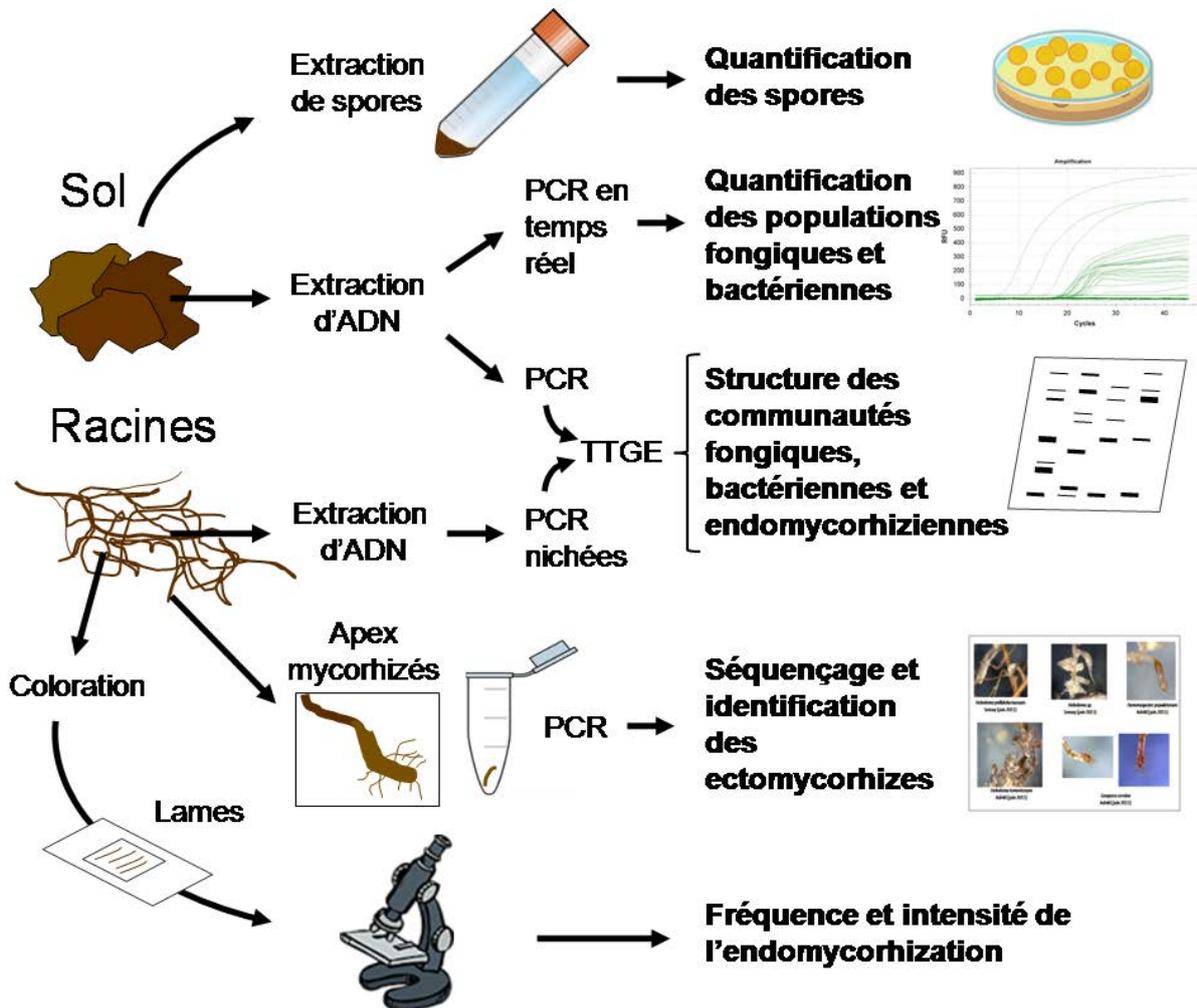


Figure 2.7 : Ensemble des analyses réalisées sur les communautés microbiennes des parcelles de TTCR, bandes enherbées, ripisylve et agrosystème.

a) Extraction d'ADN

L'extraction de l'ADN des racines et du sol a été réalisée à l'aide de kits d'extraction commerciaux, respectivement : DNeasy Plant Mini Extraction kit (Qiagen) et FastDNA SPIN Kit for soil (MP biomedical). La qualité de l'ADN extrait est vérifiée sur gel d'agarose (1% m/v d'agarose euromedex) par électrophorèse horizontale à 120 V dans du Tampon Tris Acetate EDTA (TAE) 1× (Euromedex). Sa concentration et son ratio de pureté (Abs_{260nm}/Abs_{280nm}) étaient évalués avec un spectrophotomètre à UV (UV-1800 Shimadzu)

équipé avec un modèle TrayCell (Hellma) adapté à des petits volumes (3 μL). Les extraits sont ensuite dilués pour obtenir des concentrations finales d'environ 10 ng d'ADN μL^{-1} .

b) Amplification par PCR.

L'ADN extrait a été amplifié par PCR en temps réel pour quantifier l'abondance des bactéries (gène ARNr 16S), des champignons (gène ARNr 18S) d'après Cébron et al. (2009) et Thion et al. (2012).

Tableau 2.4 : Mélanges réactionnels et conditions des PCR ciblant les ADNr bactériens (16S), fongiques totaux (18S), les ADNr de mycorhizes à arbuscules (AM) et les régions ITS des champignons totaux. Les températures (T) et les temps (Tps) des différentes étapes des cycles d'amplifications sont présentés dans la deuxième partie du tableau. Pour les AM une PCR nichée (N) a été réalisée sur le fragment amplifié avec NS31-AM1.

	ADNr 16S 1401r-968f		ADNr 18S FF390r-Fung5f		ADNr 18S AM NS31-AM1		ADNr 18S AM (N) NS31-Glo1		ITS ITS1F-ITS4	
Mélanges réactionnels PCR										
tampon	1 ×									
MgCl ₂ (mM)	1.5									
dNTP (μM)	200									
BSA (mg/ml)	0,6	0,6	0,6	0,6	1,2	1,2	1,2	1,2	0,6	0,6
DMSO (μl)	1.5	1.5	1.5	1.5	0.75	0.75	0.75	0.75		
Amorces (μM)	0,2						0,4			
Taq (U)	1,25									
ADN extrait (ng)	50	50	50	50	20	20	20	20	50	50
H ₂ O qsp (μl)	50	50	50	50	25	25	25	25	50	50
Conditions des PCR ($^{\circ}\text{C}$,min)	T	Tps	T	Tps	T	Tps	T	Tps	T	Tps
dénaturation initiale	94	5	95	5	95	5	95	5	94	5
dénaturation	94	0,5	95	0,5	94	1	94	1	94	0,5
hybridation	63-54	0,75	50	0,75	56	0,5	56	0,5	55	0,5
élongation	72	1	72	1	72	0,5	72	0,5	72	0,5
élongation terminale	72	10	72	10	72	8	72	8	72	5
nombre de cycles	19 + 15*		35		30		30		35	
taille du fragment (pb)	430		550		580		230		650	

tampon (PCR Invitrogen), dNTP (Fermentas), BSA (sérum-albumine bovine Sigma-Aldrich), DMSO (diméthylsulfure VWR), Amorces (Eurofins-MWG Biotech), Taq (Taq Polymerase recombinant Invitrogen)

* 19 cycles avec une température d'hybridation diminuant de 63°C à 54°C (-1°C tous les 2 cycles) puis 15 cycles avec une température d'hybridation de 54°C

Pour mettre en évidence la présence de champignons endomycorhiziens dans les racines, deux PCR successives (nichées) ont été réalisées (Anderson et al. 2003), ce qui ne permet pas de quantifier les gènes. Pour les champignons ectomycorhiziens, l'ITS a été ciblé (Liang et al. 2008). Les mélanges réactionnels et les cycles d'amplification utilisés sont présentés dans le tableau 2.4. Les couples d'amorces utilisés et les références associées sont présentés dans le tableau 2.5.

Tableau 2.5 : Couples d'amorces utilisés pour les PCR. Des PCR en temps réel ont été réalisées sur les cibles ADNr 16S et 18S, les amorces sont alors utilisées sans queue GC. ** PCR nichée sur le produit de la PCR (NS31-AM1).

Cibles	Amorces	Séquences 5'→3'	Réf
ADNr 16S	1401r	CGGTGTGTACAAGACCC	(Felske et al. 1998)
	968f	GAACGCGAAGAACCCTTAC	
	queue GC	CGCCCGCCGCGCCCCGCGCCCG TCCCGCCGCCCCCGCCC	
ADNr 18S	FF390r	GAGGTCTCGTTCGTTATCG	(Lueders et al. 1998)
	Fung5f	GGGAACCAGGACTTTTAC	
	queue GC	CGCCCGCCGCGCCCCGCGCCCG TCCCGCCGCCCCCGCCC	
régions ITS	ITS 1F	CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA	(Gardes and Bruns 1993)
	ITS 4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	(White et al. 1990)
ADNr 18S AM	NS31	TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCC	(Simon et al. 1992)
	AM1	GTTTCCCGTAAGGCGCCGAA	(Helgason et al. 1998)
	Glo1**	GCCTGCTTTAAACACTCTA	(Cornejo et al. 2004)
	queue GC	CGCCCGGGGCGCGCCCCGGGCG GGGCGGGGGCACGGGGG	(Kowalchuk et al. 1997)

Les PCR ont été réalisées dans un thermocycleur iCycler (Biorad). Les volumes réactionnels finaux ont été ajustés à 50 ou 25 µl avec de l'eau ultrapure filtrée à 0.22 µm et autoclavée. Une queue GC est systématiquement ajoutée aux extrémités 5' des amorces 968f, FF390r et NS31 pour les PCR suivies d'une TTGE. L'efficacité des PCR a été vérifiée par migration électrophorétique des produits d'amplification en gel d'agarose comme décrit au § II.3.1.a.

c) Analyse de la structure des communautés par TTGE et indice de diversité de Shannon

Les électrophorèses ont été effectuées dans un appareil DCode system (BioRad) à migration verticale, suivant les gradients de température, les temps de migration et les voltages présentés dans le tableau 2.6 (Anderson et al. 2003, Norini 2007, Thion et al. 2012).

Tableau 2.6 : Composition et conditions de migration des gels TTGE pour les communautés fongiques (18S), bactériennes (16S) et endomycorhiziennes (AM). 1 × correspond à 40 mM de tris-acétate, 20 mM d'acide acétique et 1 mM d'EDTA, à pH 8,3. *L'APS (persulfate d'ammonium) et le TEMED (N,N,N',N'-tétraméthyl-éthylène-diamine) sont ajoutés après filtration à 50 µm du gel pour la polymérisation.

Composition des gels TTGE	AM	18S	16S
Urée (Euromedex)	6M	5.5 M	7 M
Acrylamide (Sigma) m/v	6%	6%	6%
glycérol v/v	2%	2%	2%
Tampon TAE	1,25 ×	1,25 ×	1,25 ×
eau	qsp 30 mL	qsp 30 mL	qsp 30 mL
APS 10% m/v (Euromedex)*	0.3 mL	0.3 mL	0.3 mL
TEMED (Euromedex)*	0.03 mL	0.03 mL	0.03 mL
Conditions de migration	AM	18S	16S
Δ Température (°C)	54,5 à 59.5	51,5 à 60,5	57 à 67
Δ T/ heure (°C/h)	1	1,5	2
Tension (V)	130	145	130
Temps de migration (h)	5	6	5

Seule la quantité d'urée varie dans la composition des gels pour les trois communautés. Après la migration, les acides nucléiques ont été marqués par incubation des gels TTGE dans un bain de SYBR Gold (1/10 000 final, Molecular Probes) et les images prises au transilluminateur (Geldoc) ont été analysées avec le logiciel QuantityOne 4.01 (BioRad). Le niveau du bruit de fond a été ajusté avant la détection automatique des bandes. La correspondance des bandes entre les pistes d'un même gel a été déterminée manuellement. La correspondance des bandes entre différents gels a été établie en faisant migrer, de manière systématique, le même échantillon sur les gels à comparer. Les proportions relatives de la

fluorescence des bandes calculées par QuantityOne ont été utilisées pour construire des matrices à partir desquelles est évaluée la structure des communautés (cf. § III).

Les indices de diversité de Shanon H' ont été calculés de la manière suivante (Hill et al. 2003)

$$H' = - \sum_{i=1} p_i \times \ln(p_i)$$

Où p_i est la proportion relative de fluorescence d'une bande ou ribotype et \ln le logarithme népérien.

d) Abondance des communautés bactériennes et fongiques totales.

Le nombre de copies de gènes bactériens et fongiques est estimé par PCR en temps réel à l'aide d'un thermocycleur CFX96™ (Bio-Rad) et au logiciel associé (CFX Manager). Comme pour les TTGE, les protocoles utilisés pour la quantification des populations bactériennes et fongiques sont décrits par Cébron et al. (2009) pour les ADNr 16S et Thion et al. (2012) pour les ADNr 18S. Le mélange réactionnel utilisé pour les PCR en temps réel était le suivant : 10µL de Mix iQ SYBR Green Supermix (Biorad), 0,4 µM de chaque amorce (1401r-968f ou FF390r-Fung5f), 12 µg de sérum-albumine bovine (Sigma-Aldrich), 0,2 µl de diméthyl-sulfoxyde (VWR), 0,08 µl de protéine gp32 du bactériophage T4 (Qbiogene) et 1µl d'ADN (extrait du sol de chaque échantillon ou d'une série de dilutions allant de 10¹ à 10⁸ copies de gène.µl⁻¹ de plasmide standard) ou 1µl d'eau distillée pour le contrôle négatif. Le volume réactionnel final a été ajusté à 20µl avec de l'eau ultrapure filtrée à 0,22 µm et autoclavée. Pour les communautés bactériennes, le cycle d'amplification était le suivant: 5 min de dénaturation à 95°C suivi de 50 cycles de 30 s de dénaturation à 95°C puis 30 s d'hybridation à 56°C, 30s d'élongation à 72°C et 5s à 82°C afin d'éviter la détection de fluorescence du SYBR green due à la formation de dimères d'amorces, enfin 7 min d'élongation terminale à 72°C. Le cycle d'amplification pour les communautés fongiques est

présenté dans le tableau 2.4, avec les modifications suivantes : 40 cycles sont effectués au lieu de 35 et comme pour les communautés bactériennes une quatrième étape de 5s à 82°C a été ajoutée. Trois quantifications par échantillon de sol ont été réalisées. Le résultat utilisé est la moyenne de ces trois quantifications.

II.3.2. Inventaire non exhaustif des champignons ectomycorhiziens sur les parcelles.

Des racines des parcelles de TTCR d'Asfeld, Semuy et Givry, prélevées en juin 2011, ont été lavées et coupées en fragments de 2 cm. A partir d'observations à la loupe binoculaire, un pourcentage approximatif de colonisation a été estimé. Des apex mycorhizés ont été prélevés, écrasés dans un eppendorf au piston et mis en suspension dans 20 μL d'eau ultrapure stérile. 5 μL de ce mélange a été utilisé ensuite pour amplifier l'ADN des apex mycorhizés. Le mélange réactionnel et le protocole ont été décrits au paragraphe II.3.1.b. Les produits PCR ont été purifiés par un kit selon les instructions du fabricant (EZ-10 Spin Column PCR purification Kit, Bio Basic Inc.). Les produits purifiés ont ensuite été dosés avec un spectrophotomètre à UV (UV – 1800 Shimadzu) équipé avec un module (TrayCell, Hellma) adapté pour des petits volumes : le dosage est réalisé sur 3 μL . Ils sont dilués jusqu'à 5 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ et séquencés (Eurofins, MWG Operon, Ebersberg, Allemagne). Les séquences partielles d'ITS ont ensuite été comparées aux bases de données GenBank grâce à l'application BlastN (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

II.3.3. Colonisation endomycorhizienne.

a) Structure des communautés endomycorhiziennes dans les racines

Les bandes majoritaires des gels TTGE des communautés de champignons endomycorhiziens (§ II.3.1.c) ont été découpées au scalpel sous UV et placées dans 30 μL

d'eau ultrapure à 4 °C pendant 24 heures pour permettre la dissolution de l'ADN. 5 µl de cette solution ont ensuite été amplifiés avec les amorces NS31-Glo1 sans les queues GC. Les produits d'amplification ont été purifiés grâce au kit High Pure PCR Product Purification (ROCHE). L'efficacité de la PCR et la taille du fragment ont été vérifiées sur gel d'agarose (§ II.3.1.a). Les produits ont alors été séquencés et comparés aux bases de données pour l'identification taxonomique comme décrit ci-dessus (II.3.2).

b) Fréquence et intensité de la colonisation mycorhizienne des racines

Des observations quantitatives de mycorhization dans les racines de saules de chaque parcelle ont été réalisées sur les racines prélevées en mai 2010 (T0) uniquement. La méthode consiste à observer au microscope optique les fragments de racines, après coloration préalable au bleu Trypan, afin d'y déceler la présence de mycéliums, d'arbuscules et de vésicules (Koske and Gemma 1989). Les racines sont lavées à l'eau courante afin d'éliminer le sol adhérent. Elles sont coupées en fragments d'environ 1cm et baignées dans une solution d'éthanol à 50 %, pour une nuit. Puis la solution d'éthanol est remplacée par une solution de potasse (KOH) à 5% pendant 15 min. Les flacons sont déposés au bain-marie à 90°C pendant 15 min également. Les racines sont ensuite rincées à l'eau 4 à 5 fois. Les racines sont placées dans une solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 1% pour une nuit. Le lendemain la solution d'HCl est remplacée par une solution de bleu Trypan à 0,5% pendant une demi-journée minimum. Les racines sont rincées, puis mises dans une solution de décoloration jusqu'au moment de la préparation des lames. Les racines et la solution de décoloration sont vidées dans une boîte de Pétri. Cinq morceaux de racines sont positionnés sur une lame et recouverts de glycérol à 50%. Après la mise en place de la lamelle, les lames sont lutées avec du vernis à ongles pour éviter l'évaporation et le dessèchement des racines. La fréquence et l'intensité de

la mycorhization sont estimées par un système de notation, basé sur 6 classes (classe 0 à 5) (Trouvelot et al. 1985).

$$F (\%) = (N - n_0 / N) * 100$$

$$M (\%) = (95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1) / N * 100$$

Avec N= nombre de fragments observés, n_0 = nombre de fragments non mycorhizés et $n_5 - n_1$ = nombre de fragments notés 5 à 1.

c) Nombre de spores de champignons endomycorhiziens dans le sol rhizosphérique

Des extractions de spores, ont été réalisées à partir du sol adhérent aux racines lors du prélèvement de mai 2010 (T0). Les spores des sols des quatre parcelles de saules et des quatre bandes enherbées ont été extraites. Le protocole a été adapté de Redon (2009) : 5 g de sol sont placés dans un tube de centrifugeuse (Beckmann Avanti J-25) rempli d'eau : après une agitation de 3 heures à 40 rpm, les tubes ont été centrifugés 10 min à 4700 g.min⁻¹. L'eau est vidée et remplacée par une solution de saccharose à 50 %. L'ensemble a été agité également 3h à 40 rpm puis centrifugé 5 min à 3600 g.min⁻¹. Les surnageants ont été vidés dans des tamis à 50µm. Les spores sont alors récupérées et comptées dans une boîte de pétri. Quatre répétitions sur chaque échantillon de sol ont été réalisées.

II.3.4. Population lombricienne

Les vers de terre ont été prélevés uniquement en automne 2010 (T1) et 2011 (T3): toutes les parcelles des quatre sites (TTCR, BE, forêt et agrosystème) ont été prélevés le même jour afin d'éviter au maximum des biais d'échantillonnages liés aux variations d'humidité du sol qui modifient l'efficacité du produit utilisé pour l'extraction. Le protocole d'échantillonnage (Zaborski 2003) commence par un désherbage à ras sur une surface d'½ m² (figure 2.8). 200 mL d'allyl isothiocyanate (ACROS organic 94%, stabilisé avec 0.01%

d'alpha-tocophérol) préparé à 100 mg/L dans de l'alcool à 90°, sont dilués avec de l'eau dans un arrosoir de 10 litres puis épandus sur le $\frac{1}{2}$ m². Les lombriciens émergeant à la surface sont pris et fixés dans une solution de formaldéhyde à 37% (Rotipuran, p.a., ACS ROTH) préparé à 5%. L'opération est renouvelée une fois, 15 min après le premier épandage.



Figure 2.8 : Quadras d'échantillonnage de vers de terre

Environ 10 min après le deuxième épandage, la terre du $\frac{1}{2}$ m² est grattée minutieusement sur 10 cm de profondeur puis triée manuellement afin de récupérer les vers de terre restants. Pour une meilleure fiabilité des résultats, l'opération est répétée sur 3 quadrats différents pour chaque parcelle. Après 3 jours dans le formol, les vers de terre sont conservés dans l'alcool à 70% avant identification. Les vers de terre récoltés ont été comptés, pesés et identifiés au niveau taxonomique de l'espèce à l'aide de clés de détermination spécifiques (Bouché 1972, Cuendet 1995). Un aperçu des critères d'identification et des espèces échantillonnées est présenté en annexe 5. La diversité, la biomasse, l'abondance et les proportions de groupes écomorphologiques (epigés, anéciques et endogés) sont utilisées comme indicateurs dans cette thèse (Pérès et al. 2011).

II.4. Caractérisation des matières organiques

Les matières organiques des sols étudiés ont été caractérisées selon trois aspects. Leur biodégradabilité a été évaluée à l'aide de dispositifs d'incubation, avec un suivi de la production de CO₂. Par ailleurs, le pool considéré comme labile de la MO et les différentes formes chimiques ont été analysées après extraction à l'eau chaude (Ghani et al. 2003). Le fractionnement chimique a été préféré au fractionnement granulométrique, difficile à mettre en œuvre dans ces sols argilo-limoneux où le pourcentage d'argile varie de 50 à 70%. Le pool stable est estimé par une mesure de carbone après une hydrolyse acide. Enfin, la technique de pyrolyse Rock Eval a également été utilisée pour caractériser les pools labiles et stables.

II.4.1. Biodégradation et minéralisation des MO

Le dispositif d'incubation utilisé est le même que celui mis en place pour étudier la nitrification (§ II.2.3). Le CO₂ dégagé dans l'atmosphère des flacons au cours de la minéralisation des matières organiques est mesuré périodiquement, tous les 7 jours environ, de la même manière que la respiration basale mesurée sur le sol frais (§ II.2.2). Après chaque mesure de CO₂, les flacons ont été ouverts pendant 60 minutes pour renouveler l'air et l'humidité a été ajustée. Le taux de minéralisation du carbone, comme celui de l'azote (II.2.3) a été calculé comme suit :

Minéralisation du carbone : $C\text{-CO}_2 \text{ respiré} / C_{\text{org}}$ (‰)

II.4.2. Fractionnement chimique des MO.

a) Matières organiques extractibles à l'eau chaude.

La caractérisation des fractions du pool labile des MO a été réalisée par différentes techniques de dosage: le carbone organique extractible à l'eau chaude, puis le dosage des sucres réducteurs, des polysaccharides totaux et des composés phénoliques totaux. Les MO

extraites dans l'eau chaude sont considérées comme un proxy d'estimation du carbone labile des échantillons (Ghani et al. 2003) et le résidu après attaque acide comme un proxy du carbone stable (Rovira et al. 2010).

Extraction des matières organiques à l'eau chaude par autoclavage:

Le protocole a été adapté des études de McClaugherty (1983) et Tanaka et al. (1998). 5 mL d'eau ultra pure sont ajoutés à 200 mg de sol sec dans des tubes Falcon de 50 mL. L'ensemble a été autoclavé 60 min à 120°C. Après refroidissement à température ambiante, les tubes ont été centrifugés 20 min à 3500 rpm. Les extraits ont été filtrés à 0.2 µm. Les dosages des composés organiques ont été effectués sur ces filtrats dans les deux heures suivant l'autoclavage. Trois réplicats de mesure ont été effectués par échantillon de sol.

Le dosage du **carbone organique extractible à l'eau chaude** est réalisé par un analyseur de carbone organique total (COT V-CSH Shimadzu).

Les polysaccharides totaux sont dosés en colorimétrie selon la méthode de Dubois et al. (1956). Le protocole utilisé est celui décrit par Barriuso (1985). 1 ml de phénol (5%) puis 5 mL de H₂SO₄ à 18M sont ajoutés à 1 mL de filtrat. Après agitation puis refroidissement à température ambiante, les absorbances sont mesurées à 485 nm et exprimées en équivalent de glucose par comparaison à une gamme étalon de glucose préparée dans les mêmes conditions (0-300 µg.mL⁻¹).

Les sucres réducteurs sont dosés selon la méthode Somogyi (1952). Le protocole utilisé est celui de (Criquet 2002). 1 ml de filtrat est mélangé avec 1 ml de réactif de Somogyi correspondant à un mélange (4 :1) de Somogyi I et Somogyi II. 28,8g de sulfate de sodium anhydre Na₂SO₄, 2,4 g sodium potassium tartrate (sel de Seignette), 4,8g de carbonate de sodium NaHCO₃, 3,2 g de bicarbonate de sodium Na₂CO₃ anhydre sont dilués dans 160 mL d'eau distillée à ébullition pour la préparation de Somogyi I. 7,2 g de sulfate de sodium NaSO₄ 0,8g de sulfate de cuivre CuSO₄ sont dilués dans 40 mL d'eau distillée à ébullition

pour la préparation de Somogyi II. Le mélange (1mL de filtrat + 1mL Somogyi) est ensuite chauffé 15 min dans un bain d'eau bouillante et 1 mL de réactif de Nelson est ajouté (10,53 g de molybdate d'ammonium, 8,84 mL de H₂SO₄, 1,26 g d'arsenate de sodium dans 200 mL d'eau distillée). 2 mL d'eau distillée sont ensuite ajoutés au mélange.



Figure 2.9 : Dosage des sucres réducteurs selon la méthode de Somogyi-Nelson.

L'ensemble est mélangé, l'absorbance est mesurée avec un spectrophotomètre (SAFAS monaco XC xenius) à 750 nm. Les résultats sont exprimés en équivalent de glucose par comparaison à une gamme étalon (de glucose) réalisée dans les mêmes conditions (0-100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

Les composés phénoliques totaux sont dosés en colorimétrie selon la méthode de Folin and Ciocalteu (1927). Le protocole utilisé est celui de Singleton et al. (1999). 0,4 mL de filtrat sont mélangés à 5 mL d'eau ultrapure, 0,75 mL de Na₂CO₃ à 20% (m/v) et 0,25 mL de réactif de Folin-Ciocalteu. L'ensemble est homogénéisé au vortex et les absorbances sont mesurées à 750 nm. Les résultats sont exprimés en équivalent d'acide protocatéchique par comparaison à une gamme étalon préparée dans les mêmes conditions (0-100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

b) Compartiment stable des matières organiques.

Le pool de carbone organique stabilisé par la présence de carbonate a été évalué après acidification et dissolution des carbonates, le carbone des culots correspond à de la MO non extractible et peut être assimilé au pool stable (Rovira et al. 2010). Ces mesures ont été

effectuées sur les échantillons de sols prélevés à T1 et utilisés pour l'incubation de 30 jours. Le pool stable est déterminé après une attaque acide à froid des échantillons de sol suivie d'une hydrolyse acide à chaud en modifiant la méthode de Rovira et al. (2012). 800 μL de H_2SO_4 à 18M sont ajoutés à 200 mg de sol sec dans un tube Falcon de 50 mL. Les tubes laissés ouverts sont agités pendant 30 min à 200 rpm. 3,6 mL d'eau ultra pure sont ajoutés et la solution acide est alors de l'ordre de 1M. Cette phase est suivie de 30 min d'autoclavage à 120 °C. 45,6 mL d' H_2SO_4 (1M) sont alors utilisés pour compléter chaque échantillon. Après agitation manuelle, les tubes sont centrifugés 20 min à 3500 rpm. Les surnageants sont éliminés et le carbone et l'azote sont mesurés par analyseur d'éléments CHNS (Flash EA 1112 Thermo) après séchage des culots à température ambiante.

II.4.3. Pyrolyse Rock Eval

Les analyses ont été réalisées à l'Institut des Sciences de la Terre d'Orléans (INSU-CNRS) par J.R Disnar. L'appareil utilisé est un « Turbo » modèle pyrolyser RE6 (Vinci Technologies). Les sols ont été séchés à l'étuve à 50°C et broyés de manière homogène pour obtenir une granulométrie inférieure à 0,25 mm avant l'analyse, sans aucun autre prétraitement. 90 à 130 mg par échantillon ont été pyrolysés.

a) Principe

Le procédé RE est un craquage thermique de la matière organique comportant deux étapes successives. Le principe est décrit par Saenger et al. (2013). La première étape est une pyrolyse dans un four sous une atmosphère inerte (N_2) où la température varie de 200 à 650°C avec un gradient de 30°C/min. Les hydrocarbures (HC) et les composés oxygénés libérés sont quantifiés par un détecteur à ionisation de flamme (FID) pour les premiers et un détecteur infrarouge (IR) pour les seconds. La seconde étape est une oxydation du carbone résiduel de 400°C à 750°C (30°C/min). Le processus aboutit à la production de cinq

pyrogrammes : S1 correspond aux HC initialement libres (non présenté dans notre étude, car utilisé pour l'analyse des roches mères pétrolières), S2 quantifie les HC libérés par craquage de la MO. S3 quantifie le CO₂ et le CO produit pendant la pyrolyse et S4, S5, les CO et CO₂ produits au cours du cycle d'oxydation (figure 2.10).

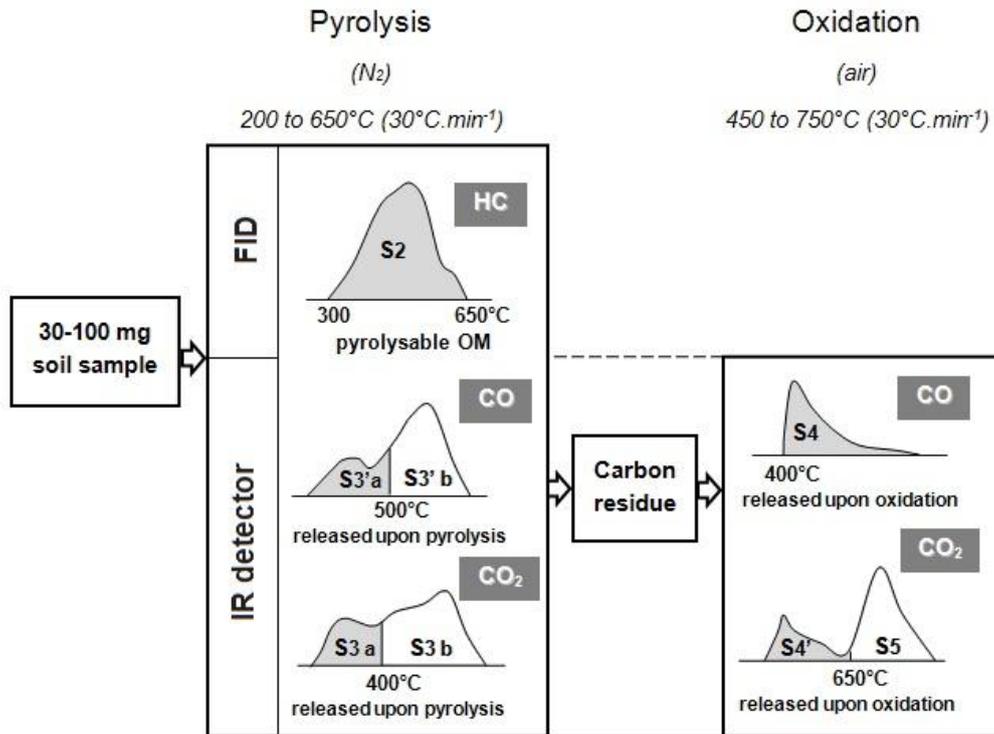


Figure 2.10 : Principales étapes et sorties de la pyrolyse Rock Eval (Saenger 2013).

Les paramètres du Rock-Eval sont basés sur l'intégration, entre des bornes de température définies, des quantités de composés hydrocarbonés, CO et CO₂ produites lors du craquage de la matière organique (Soto 2009) : la borne supérieure d'intégration du S3CO est fixée à 500°C pour éviter la réaction de Boudouard ($C+CO_2=2CO$) qui intervient au-delà de cette température (Soto 2009). Le S3CO₂ est la quantité de CO₂ produite entre 200 et 400°C pendant le cycle de pyrolyse. La limite supérieure à 400°C permet d'éviter l'intégration, dans le calcul du S3CO₂, de CO₂ provenant de carbonates fragiles, se décomposant précocement durant la montée de température (e.g. sidérite). S1 et S2 sont exprimés en mg HC/g

d'échantillon, S3CO₂ et S4CO₂ sont exprimés en mg CO₂/g d'échantillon enfin S3CO et S4CO en mg CO/g d'échantillon.

b) Définition des paramètres

Les paramètres initiaux décrits ci-dessus sont utilisés pour définir des paramètres plus usuels (Behar et al. 2001):

-Le carbone pyrolysé, (CP) :

$$CP (\%) = \frac{[(S1 + S2) \times 0.83] + \left[S3CO_2 \times \frac{12}{44}\right] + \left[S3CO \times \frac{12}{28}\right]}{10}$$

S1 et S2 sont multipliés par 0.83 afin de convertir les mg/g en % (83% du signal provient du carbone). S3 est multiplié par 12/440 pour S3CO₂ et par 12/280 pour CO (masse de C divisé par la masse de CO₂ ou de CO et conversion des mg/g en %).

-Le carbone récalcitrant (CR):

$$CR (\%) = \frac{\left[S4CO_2 \times \frac{12}{44}\right] + \left[S4CO \times \frac{12}{28}\right]}{10}$$

La technique permet de quantifier le Carbone Organique Total de l'échantillon. COT_{RE} (%) est calculé en additionnant PC et RC. Il correspond à la somme des fractions de carbone (HC, CO et CO₂) libérées lors de la pyrolyse N₂ et lors de l'étape d'oxydation.

La température maximale de pyrolyse (T_{max}) correspond à la température de formation maximale d'hydrocarbures au cours de la pyrolyse, elle est mesurée au sommet du pic S2.

Quatre autres paramètres, calculés, reflètent la qualité des MO (IH, IO_{CO}, IO_{CO2} et IO_{RE6}) (Carrie et al. 2012):

$$IH (\text{mg HC/g COT}) = S2 \times 100 / \text{TOC}$$

$$IO_{CO_2} (\text{mg CO}_2/\text{g COT}) = S3CO_2 \times 100 / \text{TOC}$$

$$IO_{CO} (\text{mg O}_2/\text{g COT}) = (16/28 \times OICO) + (32/44 \times OICO_2)$$

Les 16/28 et 32/44 sont les facteurs de conversion des unités en mg O₂/TOC (proportion de dioxygène dans les molécules CO et CO₂). L'Indice d'hydrogène (HI, mg HC.g⁻¹ COT_{RE}), correspondant à la quantité d'HC (hydrocarbures) par rapport au COT_{RE}, est corrélé au rapport H/C de l'échantillon global et renseigne sur l'importance relative des composés aliphatiques riches en hydrogène (Espitalié et al. 1977, Vandembroucke and Largeau 2007) cité par Saenger (2013). L'indice d'oxygène (IO_{RE6}, mg O₂.g⁻¹ COT_{RE}), correspondant à la quantité d'oxygène libérée sous forme de CO et de CO₂ lors de la pyrolyse, par rapport au COT_{RE}, mesure la proportion relative de O/C dans la MO de l'échantillon global (Espitalié et al. 1977, Vandembroucke and Largeau 2007) cité par Saenger (2013). IO_{RE6} est calculé à partir des indices IO_{CO} et IO_{CO2}. Les diagrammes de dispersion IH en fonction de IO_{RE6} peuvent être utilisés pour étudier la stœchiométrie C/O/H des matières organiques comme un diagramme de van Krevelen classique (Saenger et al. 2013). La température maximale de pyrolyse (Tmax) correspond à la température de formation maximale d'hydrocarbures au cours de la pyrolyse. Elle est mesurée au sommet du pic S2. Elle peut être considérée comme représentative de l'énergie thermique nécessaire à des micro-organismes pour décomposer la MO (Saenger et al. 2013). Cette valeur fournit une mesure du degré de maturité thermique de la matière organique. Plus Tmax est élevée, plus la maturité thermique est avancée.

L'analyse détaillée du pyrogramme S2 permet d'interpréter la résistance thermique des matières organiques. Le signal du pyrogramme S2 a été déconvolué en utilisant le logiciel Peakfit (SPSS ®) qui procède à des itérations automatiques reproduisant le meilleur ajustement au signal (coefficient de détermination r² proche de 1). La déconvolution du pyrogramme S2 a donné lieu à quatre courbes gaussiennes dans notre étude (F1, F2, F3, F4) (figure 2.11). Les courbes F1 à F4 donnent les contributions relatives de quatre « familles » d'hydrocarbures au signal S2. La contribution relative de chaque Gaussienne au pyrogramme S2 a été calculée en divisant les aires gaussiennes à celui de l'ensemble de pyrogramme S2.

Les courbes de Gauss du pyrogramme S2 ont été attribuées à des composés organiques de complexité croissante (Disnar et al. 2003, Sebag et al. 2006) grâce à des pyrolyses RE de composés purs (lignine, charbon, cellulose ect.).

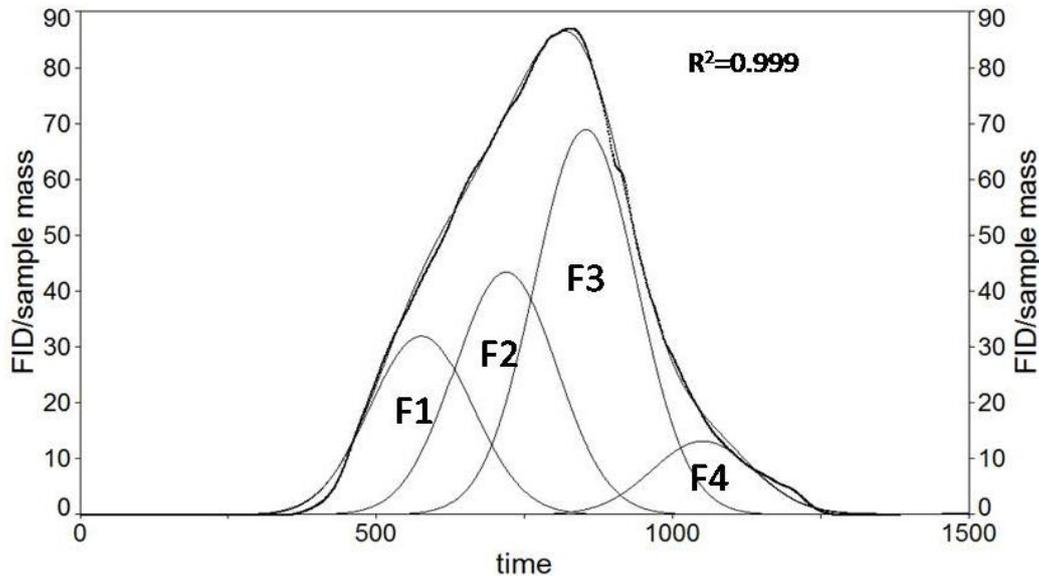


Figure 2.11 : Déconvolution du pyrogramme S2, obtenue par pyrolyse d'un échantillon de la parcelle d'Amagne prélevé en Novembre 2010.

F1 représente un signal typique de la matière végétale fraîche, labile et de la litière du sol, tels que les sucres simples. F2 a été attribuée aux biopolymères plutôt résistants, tels que la lignine et la cellulose. F3 et F4 ont été attribuées respectivement aux « géomacromolécules ». Quand les courbes F5 et F6 sont présentes, elles peuvent provenir de charbon de bois et/ou de matière organique mature (Disnar et al. 2003). Sur la base d'études antérieures (Hetényi et al. 2006, Saenger 2013), le pyrogramme S2 a été divisé en trois pools de MO définis thermiquement: un pool labile correspondant à des HC pyrolysés à des températures inférieures à 360°C (F1), un pool intermédiaire correspondant aux composés HC pyrolysés entre 360°C et 440°C (F2) et un pool plus résistant, pyrolysé au-dessus de 440 ° C (F3 et F4).

Enfin le paramètre R400 est défini comme la proportion de MO la plus labile pyrolysée avant 400°C (part du pic S2 intégré entre 200 et 400°C). R400 est donc un nombre sans dimension compris entre 0 et 1.

II.5. Estimation du bilan nutritif et du bilan carbone des plantations

II.5.1. Récolte des litières, strates herbacées et plaquettes

a) Litières

L'essentiel de la chute des feuilles intervient entre fin juillet et mi-novembre, mais environ 10% de la litière est déjà tombée fin juin, la récolte des litières par la pose de cadres doit donc intervenir assez tôt en saison (Berthelot et al. 2000). Les pièges de litière ont été déposés le 10 mai 2011 : ils sont construits de manière à obtenir un cadre d'une surface de 1 m² (intérieur), formé de 4 planches de bois d'une vingtaine de cm de large et 2 cm d'épaisseur, et posé sur 4 piquets à environ 30 cm du sol (figure 2.11). Le cadre est renforcé par 2 planches fixées dessous et dépassant du cadre permettant de fixer celui-ci sur les piquets. Le grillage est de type « garde-manger », très fin, pour récupérer tous les éléments végétaux y compris les plus fins (écailles de bourgeons, etc.).



Figure 2.12 : Photo d'un piège à litière sur la parcelle de Semuy (15 novembre 2011)

Quatre pièges ont été posés dans chaque parcelle de TTCR des sites d'Asfeld, Givry et Semuy, soit 12 pièges. Ils ont été récoltés une fois par mois entre mai et septembre, deux fois en octobre et une fois début novembre. Les cadres comprenaient très peu d'éléments ligneux, la litière n'a donc pas été scindée en éléments ligneux d'une part et herbacés d'autre part.

b) Strates herbacées

Les strates herbacées ont été coupées sur 4 demi-m² dans les TTCR d'Asfeld, Givry et Semuy le 3 octobre 2011. La hauteur moyenne de la strate a été mesurée.

Les litières de saules et d'herbacées ont été séchées à l'étuve à 65°C puis broyées avec un broyeur ultra centrifuge à rotor (Retsch ZM1) jusqu'à obtenir une poudre de granulométrie inférieure à 2 µm.

c) Plaquettes issues des TTCR de saules

Des échantillons de plaquettes réalisées à partir de six plants différents sur chaque parcelle de TTCR ont été récupérés en novembre 2011 (T3). Les échantillons ont été séchés à l'étuve à 65°C puis broyés en poudre inférieure à 2 µm, à l'aide d'un cyclo-broyeur à bol et anneaux en carbure de tungstène (Sodemi modèle CB2200).

II.5.2. Minéralisation et dosage des éléments des végétaux

Les éléments minéraux des plaquettes, des litières herbacées et des litières de saules ont été extraits par digestion acide assistée par micro-ondes. 2 ml de H₂O₂ (30%) et 4 ml de HNO₃ (70%) sont ajoutés à 200 mg de matière sèche finement broyée dans un creuset en téflon. L'ensemble est porté au four micro-ondes MARS 5 (CEM Corporation), après 15 min de montée en température et pression, un palier est atteint pendant 10 min (1200 W, 20bars et 170°C). Après refroidissement, les minéralisats sont filtrés sur papier filtre sans cendres (Whatman) et ajustés à 25 ml avec de l'eau ultra pure. Les éléments (Ca, K, Mg, Na et P) sont dosés par spectroscopie d'émission optique avec plasma induit (ICP-OES 720 Agilent). L'azote et le carbone totaux ont été analysés par un analyseur d'éléments CHNS (Flash EA 1112 Thermo). Les quantités pesées puis oxydées par combustion flash étaient d'environ 10 mg.

II.5.3. Densité apparente et calcul du stock de carbone

La densité des sols a été mesurée en juillet 2012, à l'aide de boîtes iso-volume, soit 9 mois après la première récolte pour Asfeld et Amagne et 9 mois après la deuxième récolte pour Givry et Semuy. Les boîtes étaient placées sur les 10 premiers cm du sol. 6 répétitions sur les zones non tassées d'une part et 6 répétitions sur les zones tassées ont été réalisées. Les densités apparentes ont été calculées en divisant la masse du sol sec par le volume des cylindres (251 cm³). Les stocks de carbone en kg de C_{org} à l'hectare sur 10 cm de profondeur ont été calculés de la manière suivante:

$$C_{0-10} = (M \text{ sol sec} / V \text{ cylindre}) \times C_{\text{org}} \times 10^3$$

Msol sec : masse du sol sec à l'intérieur du cylindre de prélèvement (g)

V cylindre : volume du cylindre de prélèvement (cm³)

C_{org} : teneur en carbone organique du sol (g/kg)

Les stocks de carbone par parcelle ont été calculés de la manière suivante :

$$C_{\text{parcelle}} : (D_{\text{znt}} + D_{\text{zt}}) \times (C_{\text{org}} \times 10^3 \times S/2)$$

D_{znt} : Densité des zones non tassées (g/cm³)

D_{zt} : Densité des zones tassées (g/cm³)

S : Surface de la parcelle en ha

Remarque : D'après le schéma de plantation (cf. figure 2.4), la moitié de la surface de plantation est soumise au tassement et 1ha sur 10 cm de profondeur correspond à 1000 m³.

II.5.4. Bases pour calculer le bilan nutritif et carbone des parcelles de TTCR

Dans cette partie nous nous plaçons à l'échelle de l'écosystème. La répartition du carbone et des éléments nutritifs est estimée dans l'horizon Ap et dans la biomasse de saule. Les flux de carbone et d'éléments internes à l'écosystème (prélèvements par la biomasse de saule et herbacée et retours au sol) sont estimés sur l'année 2011. Les intrants (apports atmosphériques, apports latéraux...) et les sorties par drainage, lixiviation et pertes diverses

n'ont pas été considérés, hormis le prélèvement par les récoltes. Les sols ont été prélevés sur les 10 premiers cm du sol et les densités apparentes ont été estimées sur cette même profondeur. Le bilan carbone sera estimé sur cette profondeur. Le détail des stocks et flux calculés ou estimés est illustré figure 2.13.

1. Biomasse ligneuse exportée sous forme de plaquettes en novembre 2011.
2. Biomasse aérienne totale produite en 2011
3. Apport de biomasse des litières de saule au sol du printemps à l'hiver 2011 (litières foliaires)
4. Apports ligneux issus de la mortalité des plants, calculés de la manière suivante d'après (Grogan and Matthews 2002): $W_{ba} \times (0.015/(1+100.e^{-t}))$ Où W_{ba} correspond au poids de biomasse aérienne et t représente l'âge des taillis. ($t=5.5$ ans pour les parcelles de TTCR de Semuy et Givry et $t=3.5$ ans pour la parcelle de TTCR d'Asfeld).
5. Apport de biomasse des strates herbacées développées sous les saules
6. Biomasse souterraine totale : la proportion de biomasse racinaire par rapport à la biomasse totale dans les TTCR varie entre 5 à 50% (Rytter 2001, Heinsoo et al. 2009). Ce pourcentage diminue au cours du cycle de trois ou quatre ans jusqu'à environ 10% (Dickmann and Pregitzer 1992, Scaracia-Mugnozza et al. 1997, Laclau 2012) quelle que soit la productivité des sites. Les proportions les plus hautes sont observées dans les sites non fertilisés. Une proportion de 20% a donc été utilisée pour estimer la biomasse racinaire des parcelles de Semuy, Givry et Asfeld. Par ailleurs, les teneurs en éléments dans les racines sont considérées comme équivalentes à celle des plaquettes.

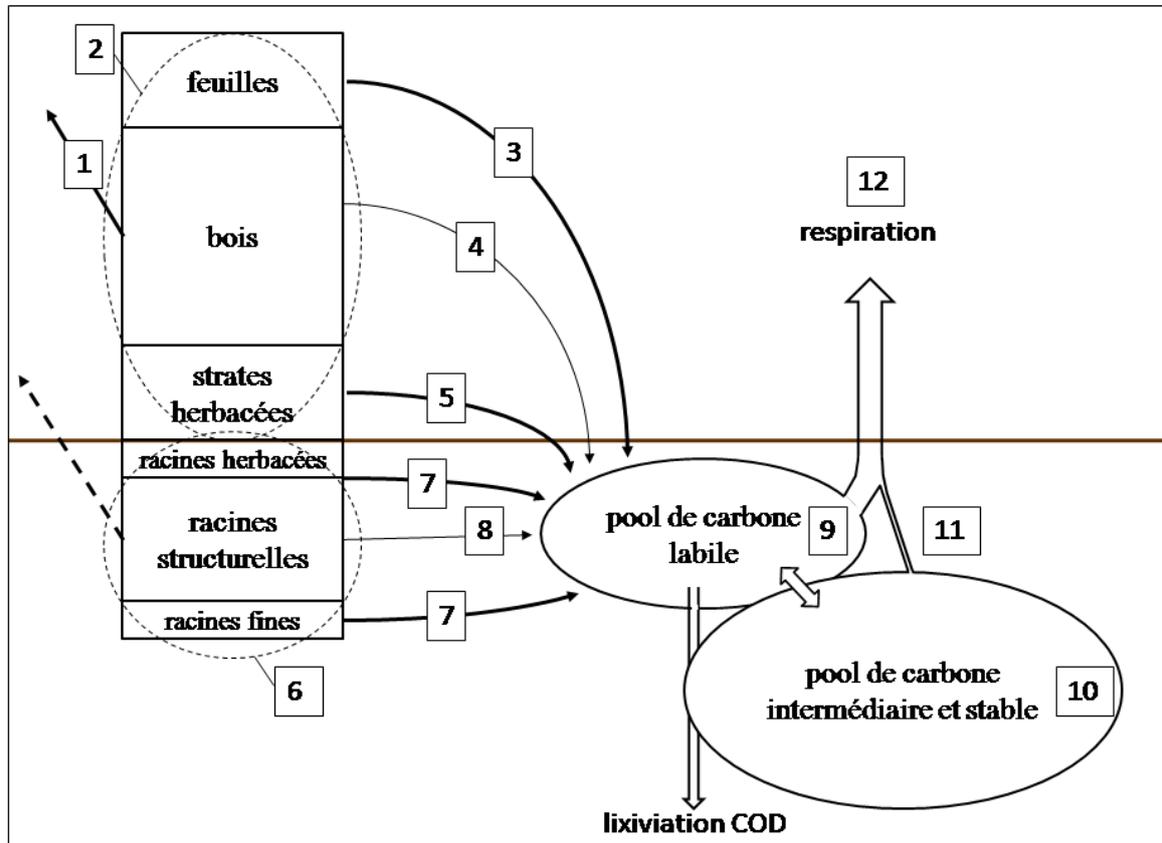


Figure 2.13 : Flux du bilan carbone des plantations de TTCR. Le bois est récolté tous les trois ans, les racines structurelles sont exportées des parcelles après 20 ans de plantation, les biomasses racinaires et leurs flux et les retombées de biomasse ligneuse par mortalité de plants n'ont pas été mesurés et sont estimés d'après des données de la littérature (cf. texte). La lixiviation du carbone organique dissous (COD) est également inconnue dans le système.

7. Le turn over rapide des racines fines (un an) est un flux majeur dans le cycle du carbone des plantations de TTCR (Nadelhoffer et al. 1985) : il représente parfois avec la nécromasse fongique et les exsudats racinaires la voie dominante d'apport de carbone au sol (62%) dans des plantations de peupliers (Godbold et al. 2006). Ces entrées de C_{org} dans le sol peuvent dépasser celles provenant des résidus de la biomasse aérienne dans la plupart des cultures arborées et herbacées (Zan et al. 2001, Sartori et al. 2006). Les proportions de racines fines disponibles dans la littérature sont extrêmement variables : d'après Rytter (2001), le ratio racines fines/biomasse aérienne varie de 0.4 à 1.2 alors qu'il est estimé à 0.07 par Heilman et al. (1994). D'autres auteurs expriment cette proportion par rapport à la biomasse racinaire totale, les

résultats sont également très variables, les racines fines représentent 7 à 13% de la biomasse racinaire totale (Fortier et al. 2013, Toenshoff et al. 2013) mais d'autres études indiquent des pourcentages allant jusqu'à 60% (Berhongaray et al. 2013). Devant l'hétérogénéité des données disponibles nous considérons le flux des racines fines équivalent à la biomasse des litières foliaires. Comme 50% des racines fines sont concentrées dans les 10 premiers cm du sol (Rytter and Hansson 1996, Heinsoo et al. 2009), le flux a été divisé par deux pour réaliser le bilan. Ce flux est supplémenté par celui des exsudats racinaires et de la nécromasse fongique mycorhizienne. Cependant ces deux paramètres n'ont, à notre connaissance, jamais été estimés sur des TTCR de saules et ne sont donc pas pris en compte dans notre calcul.

8. Comme le flux 4, cet apport correspond à des intrants ligneux issus de la mortalité des racines, il a été également calculé d'après Grogan and Matthews (2002): $W_{br} \times (0.015/(1+100.e^{-t}))$ où W_{br} correspond au poids de biomasse racinaire (valeur 6) et t représente l'âge des taillis ($t=5.5$ ans pour les parcelles de TTCR de Semuy et Givry et $t=3.5$ ans pour la parcelle de TTCR d'Asfeld).
9. La quantité de carbone labile sur l'horizon de surface a été calculé à partir du stock de carbone (§ II.5.3) avec le % de carbone labile mesuré (§ II.4.1.a).
10. Le pool de carbone intermédiaire et stable est obtenu par soustraction de la quantité de carbone labile au carbone organique total à l'hectare sur 10 cm.
11. Les stocks d'éléments nutritifs à l'hectare sont calculés comme les stocks de carbone organique (§ II.5.3) avec les éléments exprimés en g/kg.
12. Les flux de carbone respiré ont été estimés à partir de la respiration basale calculée sur un mois.

III. Analyses statistiques

Dans l'ensemble du manuscrit, des indicateurs ou paramètres liés à la qualité du sol sont comparés entre les quatre usages du sol (TTCR, BE, A et F) et au cours du temps (T0 à T4). L'ensemble des tests statistiques ont été effectués à l'aide du logiciel XL Stat 2012 (Addinsoft) avec $\alpha = 5\%$. Pour la comparaison entre plusieurs paramètres, des analyses de variance (ANOVA) à un ou deux facteurs, suivies du test de comparaison multiple de Newman-Keuls, ont été appliquées dans le cas où l'égalité des variances par test de Levene et la normalité des résidus par test de Shapiro-Wilk étaient vérifiées. Dans les cas de comparaison de ratio ou de pourcentage les statistiques ont été réalisées après transformation des données par la fonction arc sinus. Dans le cas des abondances d'espèces ou de gènes, le recours à la racine carrée a été utilisé pour normaliser les jeux de données et stabiliser les variances (Legendre and Legendre 1998).

Quand les conditions n'étaient pas requises pour une ANOVA, un test non paramétrique a été appliqué (Kruskal-Wallis) suivi du test de Dunn pour les comparaisons multiples avec correction de Bonferroni. Pour les chapitres comprenant des données sur l'évolution dans le temps des indicateurs (chapitre 4, 5 et 6), celui-ci a été considéré comme facteur indépendant (ANOVA à deux facteurs, usages du sol et temps).

La structure des communautés (16S, 18S ou AM) a été estimée avec une matrice de corrélation de Pearson réalisée avec les valeurs d'intensité relative des bandes de TTGE (§ II.3.1.c). Deux types de matrices sont utilisées dans l'analyse des structures des communautés: des ACP réalisées à partir des matrices issues de l'analyse des gels TTGE obtenus avec les ADNr bactériens et fongiques. Les observations correspondent alors à l'intensité relative des bandes. Concernant les communautés endomycorhiziennes, les ADN amplifiés utilisés sont issus d'une PCR nichée (chapitre 2, § II.3.1.b). Dans ces conditions, la variation d'intensité des bandes observées dans le gel n'est donc pas directement

proportionnelle à l'abondance des différents ribotypes présents dans l'échantillon de départ. Par conséquent, la matrice issue de l'analyse des gels est binaire et basée sur la présence et l'absence des bandes. Des analyses de positionnement multidimensionnel (MDS) ont donc été appliquées pour visualiser la structure des communautés de champignons mycorhiziens à arbuscules (MA) (Heinemeyer et al. 2004). Des analyses factorielles discriminantes (AFD) et les distances de Fisher qui en découlent, sont utilisées pour tester la significativité des groupes observés sur les ACP illustrant les communautés bactériennes, fongiques et lombriciennes (Fisher 1936).

Dans chaque chapitre, les liens entre les paramètres ont été estimés par des matrices de corrélations de Pearson.

A partir des paramètres mesurés qui discriminaient les différents usages, des indices de qualité des sols (IQS) ont été calculés. L'agrégation des indicateurs, sélectionnés à partir des paramètres, et le mode de calcul des indices est décrit dans le chapitre 4. Une autre méthode d'analyse des données a également été utilisée dans le chapitre 6, les courbes de réponses principales (PRC pour *principal response curve*). Elles évaluent dans le temps des données provenant d'expériences avec plusieurs traitements et un témoin (Van den Brink et al. 2009). La méthode permet également d'évaluer la pertinence des indicateurs utilisés. Cette analyse statistique a été employée avec succès pour évaluer des jeux importants d'indicateurs (Van den Brink et al. 2009, Cébron et al. 2011). Les PRC ont été réalisées par Jérôme Cortet (CEFE Montpellier) avec la version 5.0 du logiciel Canoco (Ter Braak and Smilauer 2002).

Dans l'ensemble des chapitres de la thèse rédigés en français, les 4 parcelles de TTCR sont dénommées par le nom de leurs sites : Semuy, Givry, Asfeld et Amagne. Les parcelles de bandes enherbées sont intitulées BEsem, BEgiv, BEasf et BEama, et les parcelles de ripisylve et d'agrosystème, situées sur le site de Semuy, sont abrégées par les lettres F et A.

Chapitre 3. Effet d'un cycle de trois ans de TTCR de saule sur les propriétés du sol comparé aux sols sous bandes enherbées, forêt alluviale et agrosystème conventionnel

Résumé

De nombreuses études ont été consacrées à l'impact de la conversion de terres arables en TTCR, mais peu d'études concernent le compartiment biologique. L'effet des TTCR a été étudié pour certains taxons de la faune du sol (acariens, araignées, carabes, vers de terre), mais ces études sont peu nombreuses et à notre connaissance, aucune d'entre elles ne présente de données sur l'activité des organismes du sol (chapitre 1, § II.2.4). Par ailleurs, de nombreuses études sont focalisées sur la diversité des champignons mycorhiziens dans les parcelles de TTCR mais le ratio d'abondance fongique sur bactérienne (F:B) est un indicateur inexploré.

L'objectif de ce chapitre était d'étudier l'impact des TTCR sur les paramètres biologiques et chimiques reflétant trois grandes fonctions des sols (fertilité, activité biologique et habitat pour les communautés biologiques). Les analyses ont été réalisées sur le sol d'une parcelle de TTCR située à Semuy (chapitre 2 § 1.2) et ont été comparées avec celles de trois autres parcelles du même site affectées à d'autres usages des sols : une bande enherbée, un agrosystème et une forêt.

Après le premier cycle de culture de TTCR sur trois ans et une récolte, de nombreux paramètres biologiques (l'abondance fongique, l'activité laccase, la proportion de vers anéciques et la diversité des vers de terre) et la CEC ont été favorisés dans le sol du TTCR par rapport à celui de l'agrosystème conventionnel. L'abondance fongique était également plus élevée dans la parcelle de TTCR que dans la forêt ou la bande enherbée. Ce premier chapitre de résultats, qui souligne un impact à court terme des TTCR sur des paramètres biologiques et chimiques du sol, est l'objet d'un article accepté dans *Plant and Soil* :

Stauffer M, Leyval C, Brun JJ, Leportier P, Berthelin J (2014) Effect of willow short rotation coppice on soil properties after three years of growth as compared to forest, grassland and arable land uses.

Effect of willow short rotation coppice on soil properties after three years of growth as compared to forest, grassland and arable land uses.

Abstract

Aims

Despite many studies on the impact of arable land conversion to Short Rotation Coppice (SRC), few studies have been carried out on soil biota. This study aims at assessing biological and physico-chemical soil properties that are affected by SRC compared to forestry, grassland and an agrosystem.

Methods

All samples were collected in the Aisne valley (France), from the same type of soil, with four land uses, *i.e.* willow SRC, agrosystem, grassland and alluvial forest, three years after SRC was planted. We studied fertility, the biological community (earthworm diversity, density and biomass, bacterial and fungal density and community structures) and biochemical parameters (enzyme activities, basal respiration and nitrification).

Results

After three years growth, soil biological parameters (fungal abundance, laccase activity, anecic earthworm proportion and earthworm diversity) and CEC were higher in the SRC than in the agrosystem soil. In parallel, fungal abundance was higher in SRC than in forest and grassland soils.

Conclusion

Compared to annual arable crops, SRC promoted biological properties. However, in the short term, the parameters we measured were lower than in the forest and grassland soils. The use

of certain parameters as indicators of soil functioning/quality assessment to discriminate the four land uses is discussed.

Key words: Short rotation coppice, Salix, land use, soil biological indicators, soil biochemical indicators

I. Introduction

Physical and chemical parameters of soil quality are relatively well defined (Schoenholtz et al. 2000), but little has been done on biochemical and biological parameters, which play a major role in soil functioning processes and are of major interest (Cluzeau et al. 2012, Havlicek 2012). Microorganisms are considered as the keys of biogeochemical cycles and soil enzymes are the main mediators of soil biological processes, such as organic matter decomposition, C, N, P, S mineralization and elemental cycling (Burns and Dick 2002). Soil enzymes have been studied in relation to ecosystem responses to global changes and other disturbances (Sinsabaugh et al. 2008). They provide information on the nutrient status and potential activities of soils (substrate availability, mineralization and respiration activities). Consequently, they could be used as indicators of soil functioning (Marx et al. 2001, Caldwell 2005). Earthworms have been used as biological soil quality indicators (Pérès et al. 2008). They contribute to many soil processes and can improve soil structure by maintaining aggregate stability (Oades 1993). They can ingest soil quantities more than 10 times their own biomass *per* day. Thus they participate to physical (*e.g.* burrows, castings) and chemical (*e.g.* mineral weathering in their guts) soil formation and evolution processes (Blouin et al. 2013). As they decompose residues (Whalen and Costa 2003), they are involved in organic matter transformation and dynamics (Schrader and Zhang 1997) and in nutrient cycling. In addition, they are sensitive to soil use or changes in land use, to farming practices and forest management techniques (Edwards and Bohlen 1996, Suthar 2009, Pfiffner and Luka 2007).

There is a large variety of soil quality indicators but there is no general agreement on a method to select parameters for assessing soil quality (Rossi et al. 2009, Hailu and Chambers 2012). Soil parameters need to be defined in a particular context to be used as quality indicators (Failing and Gregory 2003), and a combination of biological and chemical parameters is needed to provide indicators of soil functions (for example, nutrient cycling, filtering and buffering, biodiversity and habitats) (Andrews et al. 2004).

Soils are currently under increasing pressure to meet the requirements of an expanding human population. Changes in soil use in agriculture and forestry, associated to food and/or energy production, could be at the origin of major changes in soil quality, including fertility, productivity and ecological functions (Dimitriou et al. 2009, Watts et al., 2005). The current decrease in fossil fuel resources has led to diversifying energy sources and using soils previously dedicated to food production for energy and raw material production. Poplar and willow short rotation coppice (SRC) is a plant production for energy purposes of increasing interest that was developed in North America and European countries such as Sweden and Poland 40 years ago (Faasch and Patenaude 2012). The SRC cultivation technique devoted to wood chip production was only recently introduced in France (in the years 2000) (Rowe et al. 2011). Fast-growing woody species (such as willows) are grown for twenty years and harvested every three to six years. Several studies addressed the ecological impact of SRC on wildlife habitats and landscapes (Baum et al. 2006, Baum et al. 2009). Schulz et al. (2009) showed that SRC improved breeding bird diversity compared to agricultural cropland, but bird diversity was lower than in forest ecosystems, and ground beetle diversity was higher in arable fields than in SRC. Makeschin (1994) showed an increase in soil fauna diversity, microbial biomass and most faunal groups, especially decomposers, in tree plantations compared to arable land. Other studies dealt with mycorrhizal fungi and showed that mycorrhizal colonization significantly increases willow production (Van Der Heijden 2001,

Toljander et al. 2006). The impact of soil conversion to SRC on nutrient availability and soil carbon storage has also been considered. Over the long term, SRC can represent a carbon sink but over the short term it can induce N and K depletion (Lockwell et al. 2012, Ens et al. 2013). Compared to other trees, willow is known to be both water- and nutrient-demanding, especially when cultivated at high densities (Ledin 1998). Because of this high demand, the soil nutritional status of non-amended SRC plots could modify soil biological activity, communities and biogeochemical cycles. However, as yet there has been no study about the impact of SRC on soil physico-chemical and especially biological properties.

The present study aims to assess the impact of willow SRC after three years (one harvest) as compared to other land uses, *i.e.* grassland, forest and an agrosystem on (i) biological communities (earthworm biomass, density and diversity, bacterial and fungal abundance and community structure and fungal:bacterial density ratio), (ii) enzyme activities involved in the C and P cycles (laccase, alkaline phosphatase, cellobiohydrolase), (iii) fluorescein diacetate (FDA) hydrolysis, which reflects overall microbial activity (Green et al., 2006), (iv) Soil Basal Respiration (SBR), and (v) Soil Basal Nitrification (SBN). To complete these biochemical and biological parameters, physico-chemical parameters considered as fertility parameters (Stenberg 1999, Velasquez et al. 2007) were assessed, *i.e.* Cation Exchange Capacity (CEC), exchangeable elements, organic matter concentration (OM), pH, C/N ratio, available phosphorus, NH_4^+ and NO_3^- concentrations. Correlations between these parameters were estimated to discuss the data and their potential as soil quality indicators.

II. Materials and methods

II.1. Field experimental site and sampling

The experimental fields were located in the Aisne River Valley, at Semuy, 15-20 km East of Rethel, North of France (4°39'14"E, 49°28'54"N) and were characterized by an average annual temperature of 10 °C and 700 mm rainfall. The four land-use plots were located on the same type of soil (fluvic cambisol). Three hectares of a 5.5-ha maize field were converted to willow SRC in spring 2006. The clone used was tora (*Salix schwerinii* x *S. viminalis*), with 0.75 m × 1.50 m plant spacing. A first willow harvest took place in winter 2008/2009. The other part (2.5 ha) was planted with wheat next to the SRC plot and is designated as agrosystem (A) hereafter. The other two land-use fields were a grassland plot (G), composed of a mix of *Poaceae* and *Fabaceae*, located between the river and the SRC plot and first planted in 2003, and an alluvial forest (F) located within 500 meters of the other three land uses. In the forest plot, willow was the major tree species with diverse shrub vegetation and mull-type humus. The four land uses were considered as a sequence with an anthropogenic pressure gradient (Forest<Grassland<SRC<Agrosystem). The agrosystem field received usual chemical N,P,K fertilizers (130,65,115 kg/ha), one insecticide and three fungicides (deltamethrine: CAS 52918-63-5, prochloraze: CAS 67747-09-5, fenpropidine: CAS 67306-00-7) during the spring. It was ploughed every autumn at a 20-cm depth. In SRC, only one treatment with a sprouting inhibitor (Alphacypermethrine CAS 67375-30-8) was carried out when willows were planted.

Soil samplings were performed on each land-use field in autumn 2010 in the non-compacted zone (off machinery tracks for SRC). In the SRC and forest soils, litter was scarce and discontinuous; it was carefully removed before soil sampling. Soil samples (500 g) were collected 0-15 cm deep using an auger. Ten samples were collected following a 10-point grid,

(collecting points were located 70 m from one other), and were bulked and thoroughly mixed in a plastic bag to make a composite sample. The same procedure was repeated three times to obtain 3 composite samples (about 5 kg) from each land use. One part of each composite soil sample (500g) was stored at 4°C for biochemical (enzyme) analyses performed within 7 days after sampling, and another part (10 g) was stored at -80°C for microbial analyses. The last part was air-dried and sieved at 2 mm for physico-chemical and chemical analyses. Moisture contents were determined as weight loss after 48hrs drying at 100°C.

II.2. Soil analyses

Physical and chemical analyses of soil properties were performed according to French and international standard methods indicated in table 3.1 and in Bonneau and Souchier (1994) at the INRA soil analysis laboratory (Arras, France). The following parameters were analysed : particle size distribution within five fractions determined after decarbonation with hydrochloric acid, water and KCl (1 mol.L⁻¹); pH (20g of soil in distilled water with a 2:5 ratio (w/w); cation exchange capacity (CEC) and exchangeable cations (cobaltihexamine extraction); CaCO₃ (analyzed by acidification and measurement of the CO₂ released); organic carbon and organic matter (estimated by combustion after decarbonation); available phosphorus (using Olsen method). The extraction methods, NO₃⁻ and NH₄⁺ analyses are detailed below.

II.3. Enzyme activities

The enzymes selected for this study (alkaline phosphatase, cellobiohydrolase and laccase (phenol oxidase)) are involved in the P and C cycles and in more general activities (fluorescein diacetate (FDA) hydrolysis involving ubiquitous esterase, lipase and protease activities (Green et al. 2006).

Table 3.1 Characteristics of the topsoil (0-15 cm) for each land use, SRC (Short Rotation Coppice), Grassland, Forest and Agrosystem.

	Soil management				Reference method
	SRC	Grassland	Forest	Agrosystem	
Clay (%)	49	50	56	32	
Silt (%)	42	39	36	56	NF X 31 - 107
Sand (%)	9	11	9	12	
Textural class	clayey loam	clayey loam	clayey loam	loamy clay	
pH (H ₂ O)	7.6	7.3	7.5	7.7	NF ISO 10390
pH (KCl)	6.8	6.7	7.0	7.6	
CaCO ₃ (g.kg ⁻¹)	119	138	69	261	NF ISO 10693
Organic C (g.kg ⁻¹) ^a	27 ^{ab} ±0.91	32 ^{ab} ±1.81	69 ^a ±0.15	24 ^b ±3.11	
Organic matter (g.kg ⁻¹) ^a	48 ^{ab} ±1.52	56 ^{ab} ±3.19	119 ^a ±5.29	42 ^b ±0.32	NF ISO 10694
Total C (g.kg ⁻¹) ^{**}	39 ^c ±1.32	48 ^b ±1.88	76 ^a ±3.24	50 ^b ±1.27	
Total N (g.kg ⁻¹) ^a	2.9 ^{ab} ±0.07	3.2 ^{ab} ±0.09	6.2 ^a ±0.23	2.4 ^b ±0.03	NF ISO 13878
N-NO ₃ ⁻ (ppm) ^a	12.4 ^{ab} ±7.23	6.9 ^b ±0.33	22.19 ^a ±1.27	14.92 ^{ab} ±4.44	
N-NH ₄ ⁺ (ppm) [*]	4.8 ^b ±0.41	5.0 ^b ±0.20	8.6 ^a ±0.49	5.7 ^b ±0.48	
C/N ^{***}	9.6 ^c ±0.10	10.2 ^b ±0.33	11.1 ^a ±0.09	10.1 ^b ±0.06	
CEC (cmol.kg ⁻¹) [*]	35 ^b ±0.76	35 ^b ±0.99	55 ^a ±1.78	22 ^c ±0.42	NF ISO 23470
Olsen P (cmol.kg ⁻¹) ^{***}	0.04 ^b ±0.00	0.07 ^a ±0.01	0.07 ^a ±0.01	0.07 ^a ±0.01	NF ISO 11263
Ca (cmol.kg ⁻¹) [*]	35 ^b ±0.90	36 ^b ±1.39	58 ^a ±0.20	22 ^c ±0.80	
Mg (cmol.kg ⁻¹) ^a	0.93 ^{ab} ±0.01	1.23 ^{ab} ±0.05	1.78 ^a ±0.14	0.58 ^b ±0.01	NF ISO 23470
Na (cmol.kg ⁻¹) ^{***}	0.11 ^b ±0.01	0.09 ^b ±0.01	0.13 ^a ±0.01	0.04 ^c ±0.00	
K (cmol.kg ⁻¹) ^{***}	0.46 ^c ±0.04	0.65 ^b ±0.07	0.91 ^a ±0.11	0.68 ^b ±0.04	
N-NO ₃ ⁻ / (N-NO ₃ ⁻ + N-NH ₄ ⁺) (%)	97.3 ^a ±0.43	98.01 ^a ±0.16	98.29 ^a ±1.07	98.7 ^a ±0.38	
C-CO ₂ / _{org} C ‰	5.04 ^a ±1.94	4.37 ^a ±0.63	4.40 ^a ±0.63	3.33 ^a ±0.72	

means from a same line followed by different letters are significantly different (*p<0.05, **p<0.001, ***p<0.0001 Newman Keuls test or ^ap<0.05 Kruskal Wallis Test)

Cellobiohydrolase and alkaline phosphatase assays were adapted from Marx et al. (2001).

Substrates, buffers and standards for FDA hydrolysis measurements were adapted from Schnurer and Rosswall (1982) and Green et al. (2006) for microplate assays. Laccase (phenol oxidase) activity was analyzed using the method of Floch et al. (2007). For each enzyme, the corresponding substrate and standard were obtained in a crystalline form from Sigma-Aldrich Co. Ltd (table 3.2). Stock solutions of the substrates and calibration solutions of 4-

methylumbelliferone (MUB) and fluorescein were prepared in appropriate diluents (Floch et al, 2007, Green et al., 2006) and subsequently used. For each soil, substrate-saturating concentrations were assayed, and substrate concentrations were adapted for the measurements.

To summarize the methods, extracellular enzymatic activity was assayed as follows. The freshly collected soil samples were stored at 4°C at their initial moisture content. For the analyses, 2.5 g of fresh soil were suspended in 50 mL of appropriate buffer for 10 min (table 3.2) using an orbital shaker (Stuart Scientific SI50), then sonicated for 120 sec. Fifty- μ L aliquots were dispensed into black 96-well microplates in 6 replicates (Greiner bio-one, Ref 655076), except for laccase activity, assayed using black 96-well microplates with a transparent bottom (Ref 655096). Finally, substrate solutions were added to reach a final volume of 200 μ L. The microplates were stored at 28°C in the dark, then measurements were done at 60-min intervals for 360 min. Fluorescence was measured with a spectrophotometer (Safas Monaco Xenius XC) at an excitation wavelength of 490 nm for FDA, 330 nm for MUB-Substrates and an emission wavelength of 523 nm for FDA and 450 nm for MUB-Substrates (Dick et al. 1996). For laccase activity assays, absorbance of ABTS⁺ (2,2'-azinobis-bis-3ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid⁺) was measured at 418 nm with the same spectrophotometer.

II.4. Soil Basal Respiration (SBR)

Microbial respiration was measured as described by Wardle et al. (1993) with some modifications. Twenty-five grams of fresh humid soil were placed in a sterile 250-mL plasma flask closed with a rubber stopper.

Table 3.2 : Extracellular enzymes with corresponding substrates, buffers and standards to monitor their potential activity

Enzymes	ECs	Substrates	Buffers	Standards	Methods
Laccase (Phenol Oxidases)	EC 1.10.3.2	2,2'-azinobis(-3 ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt ABTS (A 1888 - 26)**	Acetate 50 mM, pH 5.0	ABTS ⁺ quantities were measured using the Beer Lambert law using with ABTS extinction coefficient*	Floch et al. 2007
Fluorescein Diacetate Hydrolysis	EC 3.1.1.x	Fluorescein Diacetate [3',6'-diacetylfluorescein (FDA)] (F 7378 - 56)**	Potassium Phosphate 60 mM, pH 7.6	Fluorescein (F 2456 - 256)**	Green et al. 2006
Cellobiohydrolase	EC 3.2.1.91	4-MUB-β-D-cellobioside (M6018)**	Phosphate 0.1M, pH 7.5	4-MUB (M1381 - 256)**	Marx et al. 2001
Alkaline Phosphatase	EC 3.1.3.1	4-MUB-phosphate free acid (M8883)**			

EC, enzyme commission classification; MUB, methylumbelliferyl

* $\epsilon_{420} = 36,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

** Sigma no.

For each composite sample, three replicates were incubated in the dark at 28°C for 3 days, and soil basal respiration (total CO₂-C released without adding any substrate) was measured daily by sampling 5 mL of the flask atmosphere and analyzing each sample using an infrared spectrophotometer gas analyzer (BINOS 1004). Microbial respiration was expressed as mg C-CO₂·hr⁻¹·g⁻¹ dry soil. The carbon mineralization rate was expressed as a fraction of total organic carbon mineralized after incubation (C-CO₂/orgC ‰).

II.5. Soil Basal Nitrification (SBN)

Five grams of dry soil were placed in a sterile 250-mL plasma flask closed with a rubber stopper and incubated in the dark at 28°C and 80% of the water-holding capacity over a 30-day period. Every 7 days, the bottles were left open for 60 minutes to renew the air, and humidity was adjusted. At T0 and T30 days, N-NO₃⁻ and N-NH₄⁺ were determined after extraction carried out using an 0.02 M KCl solution with a 1:10 (w/v) soil/solution ratio for 60 min on an orbital shaker. Then the suspension was centrifuged for 20 min at 3,500 rpm and the supernatant was 0.2-µm filtered. NO₃⁻ concentrations were measured by ionic chromatography (ICS 3000 DIONEX, column AS11-HC, T 25°C eluent KOH, flow rate 1.3 mL/min, conductimetric detection). Ammonium was determined by colorimetry using Ammonia salicylate reagent (HACH n°23952-66) and Ammonia Cyanurate Reagent (HACH n°23954-66). The ammonium ion reacts with salicylate and nitroferricyanide in alkaline conditions to form a colored complex analysed at 670 nm. But mineralization and nitrogen immobilization can occur concurrently. That is why net mineralization was measured, which reflects the basal nitrification of the soil expressed as µg NO₃⁻·g dry soil⁻¹·day⁻¹. The nitrification rate was calculated as follows: N-NO₃⁻/(N-NO₃⁻ + N-NH₄⁺) (%).

II.6. Fungal and bacterial abundance and community structure

Whole-community DNA was extracted from 0.5 g of sample (fresh weight) using a bead-beating method (FastDNA SPIN Kit for soil, MP biomedical). DNA was then eluted in 100 μL of final kit buffer. DNA quality was checked by horizontal electrophoresis on TAE (Tris Acetate EDTA) buffer using 1% molecular grade agarose (Euromedex) and visualized under a Gel Doc transilluminator (Bio-Rad) after staining with 0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ of ethidium bromide. DNA amounts and A_{260}/A_{280} purity ratios were evaluated using a UV spectrophotometer (UV-1800 Shimadzu) equipped with a module (TrayCell, Hellma) adapted for small volumes (3 μL).

Bacterial and fungal abundance was estimated by DNA extraction followed by quantification of 16S and 18S rRNA gene copy numbers as described in Cébron et al. (2009) and Thion et al. (2012). Real-time PCR quantification of the rRNA gene was performed on 1 μL of DNA extract using universal primers Fung5F (5'-GGGAACCAGGACTTTTAC-3') and FF390R (5'-GAGGTCTCGTTCGTTATCG-3') for 18S rDNA (Lueders et al. 1998), and 968F (5'-GAA CGC GAAGAA CCT TAC-3') and 1401R (5'-CGG TGT GTA CAA GAC CC-3') for 16S rDNA (Felske et al. 1998). Real-time PCR detection using SybrGreen (iQSybrGreenSupermix, Bio-Rad), temperature profiles and gene standard preparations were performed as described by Cébron et al. (2009) for the 16S rRNA gene and by Thion et al. (2012) for 18S rRNA gene. The quantification of each sample was performed in triplicate in three independent real-time PCR runs using an iCycleriQ apparatus (CFX 96 TouchTM Bio-Rad) coupled with a 96-well optical module. The detection limit of the method was 5.1 gene copies *per* μL of DNA extract, corresponding to approximately 104 gene copies g soil^{-1} . To calculate the fungal:bacterial ratio (F:B), the 18S gene copy number was divided by the 16S gene copy number.

Bacterial and fungal community structures were estimated using temporal temperature gradient electrophoresis (TTGE) analysis of the 16S or 18S rRNA genes as described in Cébron et al. (2009) and Thion et al. (2012). The DNA extracts were diluted in 0.22- μ m filtered ultrapure water to reach a final concentration of about 10 ng of DNA μ L⁻¹. Bacterial and fungal rRNA gene fragments were amplified using respectively the same universal 968F-1401R and Fung5F-FF390R primer set as described above. A GC clamp was added to the reverse primer as described by Muyzer et al. (1998), and to the 5' end of the 968F and Fung5F primers to stabilize the melting behavior of the DNA fragments. PCR was performed using an iCycler apparatus (Bio-Rad). PCR-TTGE analyses were performed in triplicate for each composite soil sample (SRC, grassland, agrosystem and forest) on a DCode system (Bio-Rad, France) by using vertical polyacrylamide /acrylamide gels (6% (w/v), 7 M urea for the 16S rRNA gene and 5.5 M for the 18S rRNA gene, 2% (v/v) glycerol) in 1.25 \times TAE buffer (1 \times TAE buffer corresponds to 40 mM Tris-acetate, 20 mM acetic acid, and 1 mM EDTA [pH 8.3]). After electrophoresis at 130 V or 145 V with a temperature gradient from 57 to 67°C (2°C/hr) or 51.5 to 60.5°C (1.5°C/hr) for the 16S and 18S rRNA genes, respectively, the gels were stained by SYBR gold (1/10,000 final dilution; Molecular Probes) and analyzed on a Gel Doc transilluminator (Bio-Rad) coupled with Quantity One 4.0.1 software (Bio-Rad) to detect bands and calculate their relative abundance. Then a matrix of each ribotype in the samples, characteristic of each land use, was generated. Shannon diversity index (H') values were calculated as follows (Hill et al. 2003).

$$H' = - \sum_{i=1} p_i \times \ln(p_i)$$

where p_i is the relative abundance of ribotype i , and \ln is the Napierian logarithm.

II.7. Earthworm sampling and analyses

Earthworm sampling was performed on-site on October 18th, 2010, using Allylithiocyanate (AITC) (Acros Organics, 94%, stabilized with 0.01% alpha-tocopherol), a similar compound to the active substance of mustard, according to the method described by Zaborski (2003). Two 10-L doses were applied at 30-min intervals on 0.5 m² of each land use plot (SCR, agrosystem, grassland, forest) and triplicates were performed. The “hand sorting” method to a depth of 10 cm was applied additionally to ensure that no earthworm remained in the soil after chemical extraction. After 3 days in a 5% (v/v) formaldehyde solution, earthworms were placed in a 70% ethanol solution before identification. They were counted, weighed and identified down to the species level using the methods of Bouché (1972) and Cuendet (1995). The Shannon diversity index as described above was calculated to compare the different land uses; p_i was the number of individuals in species i over the total number of individuals in the sample.

II.8. Statistical analysis

All the parameters were compared using XL Stat 2012 Software (Addinsoft) with $\alpha \leq 0.05$ considering the average results of the replicates. All the assumptions required by the analysis of variance (ANOVA) were verified. One-way ANOVA was performed when possible, followed by a Newman Keuls *post hoc* test to assess the impact of land uses on soil parameters. When conditions were not met for a parametric test, non-parametric analyses were used (Kruskal-Wallis Test). 18S/16S rRNA gene copy number ratios and mineralization rates were arcsin-transformed before variance analysis. As for bacterial and fungal community structures assessed by TTGE, a principal component analysis (PCA) of the TTGE data (using the relative abundance of the ribotypes on TTGE profiles) was performed using a Pearson correlation matrix. To identify potential soil quality indicators, all the measured

biochemical, biological and physico-chemical parameters were included into a PCA analysis, using a Pearson correlation matrix.

III. Results

III.1. Soil fertility parameters

Soils were clayey loam (SRC, forest and grassland) or loamy clay (agrosystem) with an average clay + loam proportion of 88 to 92% (table 3.1). The forest soil (F) was less carbonated than the other three soils. pH values were between 7.3 and 7.7. Organic Matter (OM) concentration in the SRC soil was not significantly different as compared to the agrosystem and grassland soils, but was significantly lower than in the forest soil. CEC was highest in the forest soil again and lowest in the agrosystem soil; its values were similar for grassland and SRC soils, with significant differences compared to the forest soil. Available P and exchangeable K concentrations were significantly lower in the SRC plot than in the other three plots. The C/N ratio was significantly lower in the SRC soil and significantly higher in the forest soil, suggesting differences in organic matter composition and availability (biodegradability). In fact the organic carbon mineralization rate ($C-CO_2/_{org}C$) was higher in the SRC soil (table 3.1), suggesting higher organic matter biodegradability and availability. Exchangeable Mg concentrations were not significantly different across the four land uses. Na concentrations were similar in SRC and grassland soils. They were higher than in the agrosystem soil, and the highest level was once again observed in the forest soil. $N-NH_4^+$ concentrations were significantly higher in the forest plot than in the other land uses. $N-NO_3^-$ values were more variable and significantly higher than $N-NH_4^+$ values, except for grassland soil.

III.2. Biological activity parameters

From a general point of view, biochemical and microbial activities determined by assaying soil basal respiration, soil basal nitrification and enzymatic activities were highest in the forest soil and lowest in the agrosystem soil. Some differences and specificities were observed between the four land uses (table 3.1; figure 3.1).

III.2.1. Soil Basal respiration (SBR) and Soil Basal Nitrification (SBN)

SBN was similar in the SRC, grassland and agrosystem soils but significantly higher (3-fold) in the forest soil. Soil Basal Respiration (SBR) did not significantly differ between SRC, grassland and the agrosystem but it was significantly lower in the agrosystem than in the forest. Nitrogen and carbon mineralization values were tightly related to soil organic matter concentrations (table 3.3) ($r = 0.91$ and 0.95 respectively), while SBR and SBN were also positively correlated ($r = 0.89$). Therefore C and N cycling were fairly well coupled. However, the nitrification and the carbon mineralization rates (estimated by $\text{N-NO}_3^- / (\text{N-NO}_3^- + \text{N-NH}_4^+)$ and $\text{C-CO}_2 / \text{orgC}$, table 3.1) did not significantly differ across the four land uses. These results show that OM biodegradability determined by potential C and N mineralization was similar for the different land uses despite different quantitative pools.

III.2.2. Enzymatic activities

High laccase and phosphatase activity levels were observed in the forest plot compared to the other land uses (figure 3.1). Phosphatase activity was higher in the forest soil than in the agrosystem soil and did not significantly differ between the SRC soil and the other land use soils. In the SRC plot, laccase activity was significantly higher than in the agrosystem plot and lower than in the forest plot.

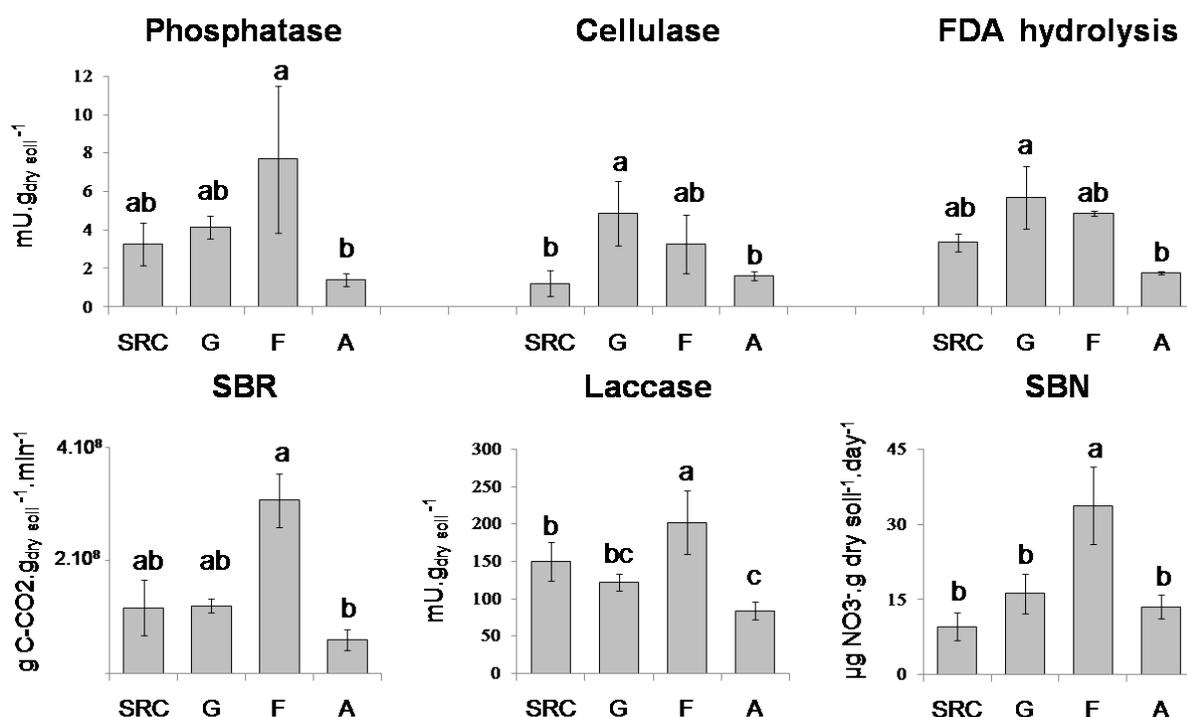


Figure 3.1: Effect of land use on biochemical and microbial activities: enzymatic activity (phosphatase, laccase, cellulase and FDA hydrolysis), Soil Basal Respiration (SBR), Soil Basal Nitrification (SBN). Values are means \pm SE (n= 3). Different letters indicate significant differences between means (P<0.05)

The grassland plot exhibited the highest cellulase and FDA hydrolysis levels. Cellulase activity values were similar in the SRC and agrosystem soils and lower than in the grassland soil (below 2 mU). FDA activity in the SRC soil did not significantly differ from FDA activity in the other land use soils.

III.3. Biological communities (earthworms, fungi and bacteria)

Biomass, density, diversity and proportions of the five ecological earthworm groups are presented in figure 3.2. The main species in these five groups were as follows : (i) epigeic : *Lumbricus rubellus rubellus*, *Lumbricus castaneus*, *Eisenia andrei*; (ii) epi-aneic: *Lumbricus festivus*; (iii) aneic: *Aporrectodea longa*, *Aporrectodea nocturna*, *Aporrectodea sp.*, *Aporrectodea giardi*, *Lumbricus terrestris*; (iv) epi-endogeic: *Octolasion cyaneum*; (v) endogeic: *Allolobophora chlorotica*.

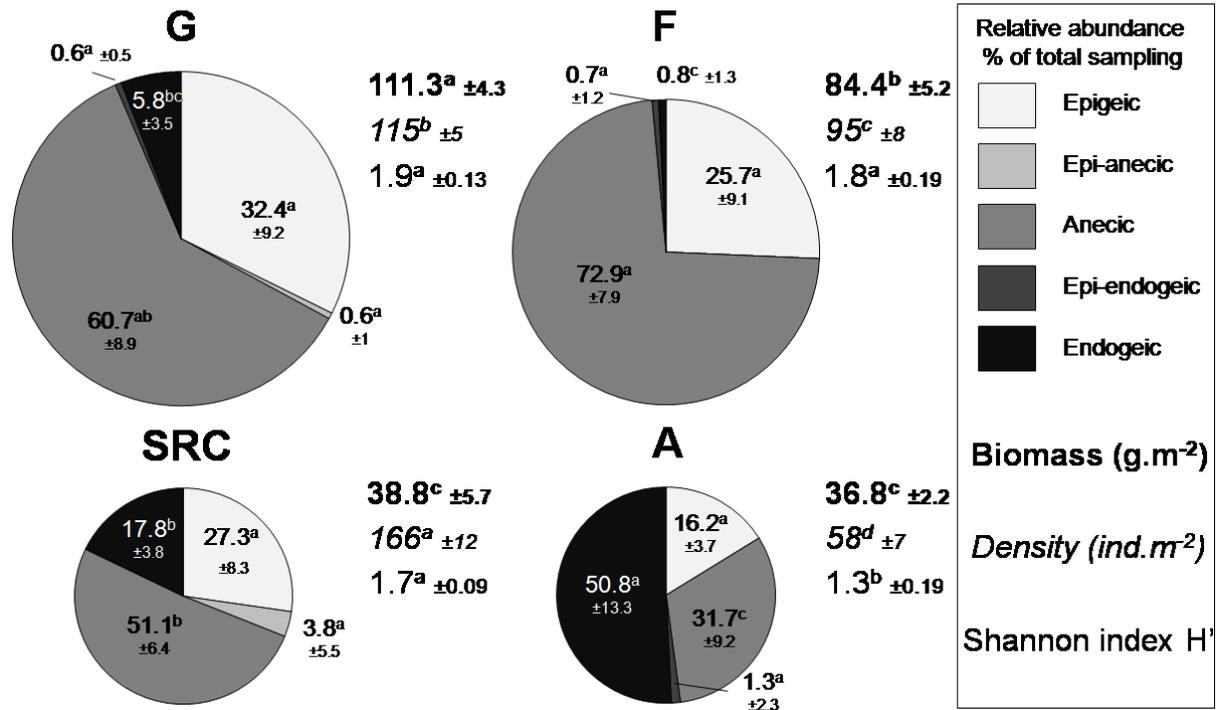


Figure 3.2 : Earthworm biomass, density, diversity and % of ecological groups in the four different land uses. (Biomass and density $p < 0.0001$, Shannon's index $p = 0.005$, % anecic and endogeic $p < 0.002$). Diagram sizes are proportional to biomass values

Earthworm biomass exhibited similar values in the SRC and agrosystem soils (about 40 g/m²). It was three times higher in the grassland soil and more than two times higher in the forest soil than in the SRC and agrosystem soils. As for earthworm density, differences were significant between the four land uses: the SRC soil displayed the highest density, followed by the grassland, forest and finally agrosystem soils. The anecic earthworm percentage in the SRC soil was not statistically different from the percentage in the grassland soil (51 and 60%, respectively), but was significantly higher than in the agrosystem soil (31%) and lower than in the forest soil (72%). The SRC and agrosystem soils exhibited a higher proportion of endogeic earthworms than the grassland and forest soils, at the expense of anecic and epigeic populations. Epigeic earthworm proportions did not significantly differ between the four land uses. Earthworm diversity as expressed by the Shannon index (H') did not significantly differ across the grassland, forest and SRC soils, but it was significantly lower in the agrosystem

soil. To conclude, earthworm biomass was reduced in the SRC and agrosystem soils compared to grassland and forest soils, but density and diversity were higher in the SRC soil than in the agrosystem soil.

16S rRNA gene copy numbers were similar and did not significantly differ across the four land uses (SRC= $9.6.10^8 \pm 2.1.10^8$, G= $1.5.10^9 \pm 3.7.10^8$, F= $1.4.10^9 \pm 1.5.10^8$, A= $1.2.10^9 \pm 3.6.10^8$ gene copies.g⁻¹dry soil). However, the 18S rRNA gene copy number was significantly higher in the willow-grown soil than in the other land-use soils: SRC= $1.2.10^7 \pm 4.3.10^6$, vs. $3.4.10^6 \pm 8.3.10^5$, $6.3.10^6 \pm 9.5.10^5$ and $9.5.10^5 \pm 3.7.10^5$, for the grassland, forest and agrosystem soils, respectively. The 18S/16S rRNA gene copy number ratio was estimated to reflect the relative abundance of fungi as compared to bacteria. This ratio was significantly higher in the SRC soil than in the other land use soils, and 14 times higher in the SRC soil than in the agrosystem soil (figure 3.3a).

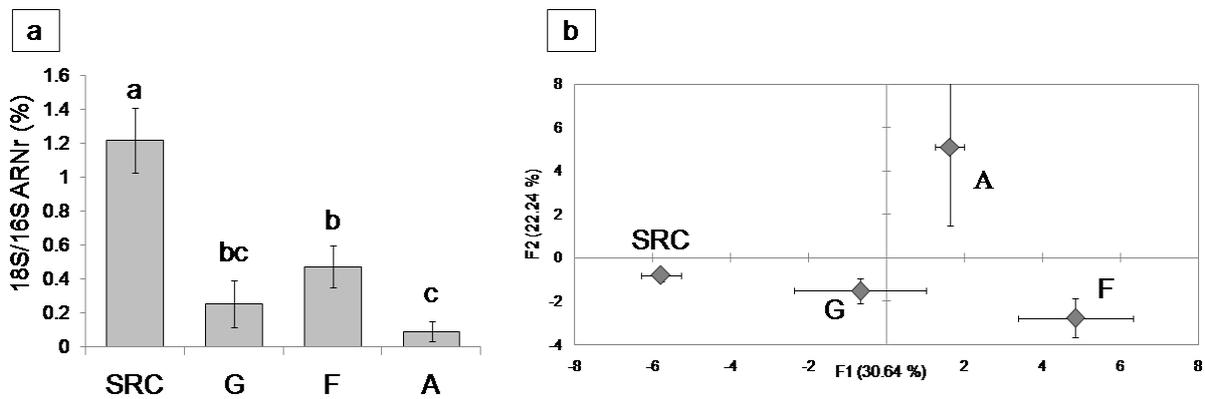


Figure 3.3 : Relative abundance and structure of the fungal community for the four land uses
a. Percentages of 18S/16S rRNA gene copy numbers quantified by real time PCR. Different letters indicate significant differences ($p < 0.0001$)
b. Principal component analysis (PCA) of fungal community structures, based on Pearson correlation matrix

PCA performed on a matrix derived from TTGE gels showed that fungal community structures differed across the four land uses (figure 3.3b). Agrosystem, grassland and forest bacterial communities differed from one another, and SRC had a bacterial community structure close to grassland (data not shown). The Shannon diversity index (H') estimated from TTGE profiles of bacterial and fungal communities showed no significant difference

between the four land uses (data not shown). Values ranged between 1.49 and 1.92 for fungi, and between 1.91 and 2.09 for bacteria.

III.4. Correlation between the studied parameters

Soil basal respiration (SBR), the easily available nutrient reserve (CEC) and OM concentration were correlated ($r > 0.9$) (table 3.3). However, FDA hydrolysis, which reflects global activity, was poorly correlated (0.60) with CEC. FDA hydrolysis had the highest correlation values with earthworm biomass and diversity and was negatively correlated with the proportion of endogeic earthworms. The 18S/16S ratio was interestingly correlated with earthworm density (earthworms can disseminate fungal spores through gut transfer (Harinikumar and Bagyaraj 1994)) and anti-correlated with available phosphorus. Earthworm biomass and diversity were correlated with cellulase activity and FDA hydrolysis ($r > 0.80$). FDA hydrolysis and cellulase activity were correlated ($r = 0.82$), and so were laccase and phosphatase activities (0.65) (table 3.3). Some of the parameters appeared related to land use, *e.g.* high laccase and phosphatase activity levels in the forest soil where lignin is one of the major tree constituents and high cellulase activity in the grassland soil where cellulose is one of the major grass constituents. The PCA of the parameters (figure 3.4) discriminated the four land uses. The first axis discriminated land uses according to OM concentration and parameters such as SBR, SBN, phosphatase and laccase activities and CEC which also depend on OM properties. The second axis separated land uses according to earthworm density and fungal abundance and to the nutritional status of the soils (Olsen P, K).

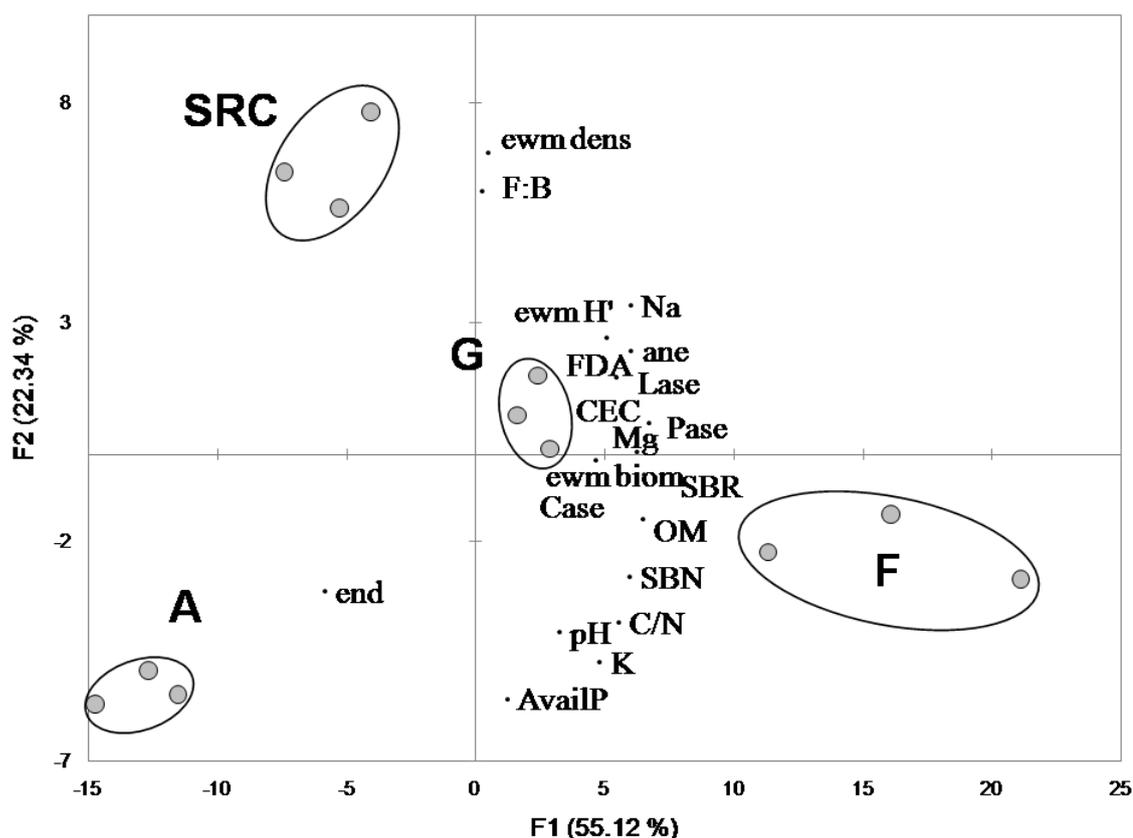


Figure 3.4 : Principal Component Analysis (PCA) of the biochemical, biological and physico-chemical parameters, based on Pearson correlation matrix (ewm: earthworm, dens: density, biom: biomass, ane: % anecic, end: % endogeic, Lase: Laccase activity, Pase: Phosphatase activity, Case: Cellulase activity, SBR: Soil basal respiration, SBN: Soil Basal Nitrification, AvailP: Available Phosphorus)

IV. Discussion

Earthworm biomass was similar in the SRC and agrosystem soils, and higher in the grassland and forest soils. Cluzeau et al. (2012) also reported that earthworm density was higher in grasslands than in forests or crops. The negative impact of agrosystems on earthworm density, diversity or biomass is widely reported in the literature and can be explained by different factors (*e.g.* tillage, monoculture, fertilization, phytotreatments) (Curry et al. 2002, Piffner and Luka 2007, Peigne et al. 2009). The highest earthworm density was found in the SRC soil, and their diversity (H') was also higher in the SRC soil than in the agrosystem soil. These results are consistent with those of a recent study carried out in

Sweden (Lagerlöf et al. 2011), where earthworm density and diversity under willow coppice were significantly higher in SRC than in classical arable fields over a ten-year period (1995-2005). Higher earthworm density and biomass were also observed in three *Salix* plantations (66-324 ind.m⁻²) compared to adjoining cereal fields (0-28 ind.m⁻²) in Denmark (Friis et al. 1999). The higher earthworm density and diversity we observed in SRC than in the agrosystem can be attributed to the absence of tillage and pesticide use over a 3-year period as well as to a direct effect of willows, which provided large amounts of organic matter through the leaf litter and also root litter and exudates. The percentage of anecic earthworms was higher in the SRC soil than in the agrosystem soil and lower than in the forest and grassland soils, while the percentage of endogeic earthworms was lower than in the agrosystem soil and higher than in the forest and grassland soils. This can be related with the agricultural practices - in particular ploughing - and OM dynamics. In arable lands, the proportion of anecic earthworms is usually low, with average values of 10-30% (Lavelle and Spain 2005), and endogeic species (*i.e. Allolobophora chlorotica*) are dominant in regularly ploughed soils (Chan 2001, Lagerlöf et al. 2011). Earthworm ecological groups were modified in SRC compared to the conventional crop, *i.e.* the proportion of endogeic earthworms decreased in favour of anecic and epigeic species, which increased (*i.e. Lumbricus castaneus*) (Lagerlöf et al. 2011). Willow is known to have a high fine-root turnover (Rytter and Rytter 1998) and could enrich the surface horizon in organic C along with litter falls and root exudates and increase epigeic and anecic earthworm numbers. In SRC, they can actively participate to the degradation of willow litter (Šlapokas and Granhall 1991). Therefore earthworm communities provide valuable discriminating parameters to assess the impact of willow SRC.

Table 3.3 Pearson correlation coefficients between physical, chemical and biological properties

	Case	FDA	Lase	SBR	SBN	OM	TotC	TotN	C/N	F:B	wmH	wmB	wmD	P	CEC	Ca	Mg	Na	K	pH	ane	end
Pase	0.56	0.55	0.65	0.86	0.82	0.81	0.70	0.81	0.66	0.16	0.66	0.46	0.11	0.16	0.83	0.81	0.87	0.79	0.65	0.46	0.72	-0.65
Case		0.82	0.08	0.32	0.37	0.29	0.30	0.30	0.32	-0.35	0.70	0.83	-0.07	0.49	0.33	0.32	0.53	0.33	0.36	-0.05	0.39	-0.48
FDA			0.40	0.47	0.34	0.45	0.29	0.47	0.30	-0.02	0.84	0.85	0.29	0.12	0.60	0.59	0.72	0.64	0.22	-0.09	0.62	-0.80
Lase				0.82	0.69	0.79	0.59	0.81	0.54	0.35	0.40	0.28	0.27	-0.32	0.88	0.86	0.78	0.82	0.32	0.44	0.73	-0.68
SBR					0.89	0.95	0.84	0.96	0.79	0.10	0.50	0.41	0.00	0.07	0.95	0.94	0.91	0.82	0.69	0.66	0.78	-0.68
SBN						0.91	0.92	0.90	0.90	-0.23	0.34	0.42	-0.33	0.36	0.81	0.81	0.84	0.57	0.85	0.71	0.60	-0.46
OM							0.93	1.00	0.89	-0.03	0.43	0.43	-0.13	0.17	0.94	0.95	0.92	0.72	0.80	0.74	0.70	-0.62
TotC								0.92	0.97	-0.32	0.26	0.39	-0.46	0.43	0.77	0.79	0.78	0.46	0.93	0.84	0.51	-0.38
TotN									0.87	0.01	0.45	0.44	-0.08	0.13	0.96	0.96	0.93	0.75	0.77	0.72	0.72	-0.65
C/N										-0.37	0.31	0.48	-0.47	0.54	0.74	0.76	0.76	0.42	0.94	0.73	0.53	-0.42
F:B											0.20	-0.33	0.89	-0.83	0.21	0.17	0.05	0.51	-0.46	-0.22	0.28	-0.30
wmH												0.76	0.42	0.15	0.60	0.59	0.71	0.73	0.26	-0.19	0.77	-0.90
wmB													-0.01	0.44	0.50	0.51	0.67	0.46	0.38	-0.09	0.62	-0.71
wmD														-0.76	0.18	0.15	0.11	0.54	-0.58	-0.51	0.36	-0.48
P															-0.03	0.00	0.14	-0.30	0.68	0.20	-0.08	0.07
CEC																1.00	0.97	0.89	0.60	0.53	0.82	-0.80
Ca																	0.96	0.87	0.62	0.55	0.80	-0.79
Mg																		0.86	0.65	0.45	0.85	-0.84
Na																			0.27	0.20	0.91	-0.89
K																				0.73	0.36	-0.27
pH																					0.13	0.04
ane																						-0.91

Values in bold are significant at $p < 0.05$

Pase: Phosphatase, Case : Cellulase, FDA: Fluorescein Diacetate hydrolysis, Lase : Laccase, SBR : Soil Basal Respiration, SBN : Soil Basal Nitrification, OM: organic matter, F:B : Fungal:Bacterial ratio, wmH, wmB, wmD : earthworm diversity, biomasse, density, ane : % anecic, end : % endogeic

Along with the soil macrofauna (earthworms), soil microbial parameters provided valuable information on soil biological functioning in SRC compared to the other land uses. The F:B ratio value we found for SRC (1.2) was in the same range as previously reported for forest and grassland (between 1.0 and 4.0), while values reported for agroecosystems (between 0.5 and 0.8) were close to those we observed for our agrosystem (Scheu and Parkinson 1994, Bailey et al. 2002, Ananyeva et al. 2006, Plassart et al. 2008). Up to now, high relative fungal abundance has not been reported in SRC. The F:B ratio was particularly high in many cases of transition from annual crop to ligneous species, whatever the perennial species, whether deciduous or coniferous (Chen et al. 2008, Carson et al. 2010). This could result from a change toward much more ligninolytic organic matter input. During the cultivation of a perennial grass (panic) for energy production purposes on a former cornfield, Liang et al. (2012) found a similar trend towards an increasing F:B ratio. The high relative fungal abundance we observed under willows could be explained by the low available P and exchangeable K levels in SRC, as observed by Püttsepp et al. (2004). Fungal community differences between F and SRC suggest the influence of the willow genotype, as observed by Khasa et al. (2002) and Püttsepp et al. (2004). Changes in agricultural practices can also be at the origin of fungal abundance, as no-tillage practices promote fungal populations (Frey et al. 1999, Bailey et al. 2002, Simpson et al. 2004). Pesticide and mineral nitrogen inputs are also known to relatively promote bacterial populations at the expense of fungal populations (De Vries et al. 2006, De Vries et al. 2007, Ratcliff et al. 2006) and their withdrawal could be at the origin of higher F:B ratios or/and increased fungal diversity, as noted by Costa et al. (2012) for different agro-systems. Quantitative and qualitative changes in the OM input can also be involved in microbial community changes. The quality of available organic compounds is considered as one of the most important factors controlling soil microbial community relationships (Wardle and Giller 1996), as a source of available substrate and

nutrients. Willow leaves bring compounds such as polyphenols, condensed tannins, glycoside phenols, etc. to the soils (Julkunen-Tiitto 1985, Robinson et al. 2004) and modify the proportion of aliphatic lipids, increasing long-chain saturated n-alkanoic acid and n-alkanol contents (Jandl et al. 2012), and this can promote fungal growth. Fungal abundance under SRC could also be associated to the large amount and the diversity of herbaceous plants that colonized the whole SRC understory. Many grass species do not grow in arable crops, but do grow in willow fields (Baum et al. 2012a, Baum et al. 2012b), and above-ground plant diversity can promote filamentous fungus diversity and abundance in agroforestry (Costa et al. 2012). These changes in earthworm and microbial community structures in SRC can also be related to differences observed in biological activities. The higher fungal density in the SRC soil than in the agrosystem soil may be associated to the significantly higher laccase activity in SRC. Microbial and biochemical activity (SBR, SBN and enzyme activities) parameters were mainly higher in the forest soil than in the arable land use soils, and except for laccase activity, they did not significantly differ between the SRC and arable land use soils.

In the present study, earthworm communities and microbiological parameters discriminated SRC from the other land uses as early as three years after conversion and provided land use footprints. The large earthworm biomass in the grassland soil, the highest anecic proportion in the forest soil, the highest endogeic proportion in the agrosystem soil and the highest density in the SRC soil confirm that the characteristics of earthworm communities can be used as indicators of agricultural practices (Pérès et al. 2008). High cellulolytic and FDA hydrolysis activities also characterized the grassland soil. The forest soil exhibited high $_{org}C$ concentration, laccase and phosphatase activity levels, SBR and SBN. The SRC soil had a high fungal abundance and a low P concentration.

Most of the selected chemical parameters (Organic Matter, Total C, Total N, N-NO_3^- , N-NH_4^+ , C/N, CEC, Olsen P, exchangeable Ca, Mg, Na, K) also discriminated the four land uses. Some parameters such as exchangeable Ca were not very informative, because all the soils were Ca-saturated. Others such as Mg, epigeic earthworm percentage, fungal and bacterial diversity indices (H') and 16S rRNA gene abundance, were not discriminant at that stage of the SRC. Correlations between biological and chemical indicators provide major information on soil functioning (Andrews et al. 2004). In our study, many parameters were correlated with OM concentration. SBR and carbon mineralization rates reflect organic matter availability for microorganisms and the rate of OM turnover (Insam et al. 1991). SBN and nitrification rates can also be considered as a measurement of OM biodegradation and bioavailability, as NO_3^- was provided by NH_4^+ that reflects basic nitrogen mineralization. SBR and SBN in the SRC soil were found at intermediary values between the forest and agrosystem soils or similar to the agrosystem soil for SBN, and these parameters were correlated with OM concentration (table 3.3). OM appeared as the major parameter that influences biological activity in all four land uses. OM is considered as a proxy for biological activity and/or soil fertility by different authors (Karlen et al. 1997, Carter 2002, Andrews et al. 2004). OM concentration was also highly correlated with different other soil properties, *i.e.* exchangeable element concentration, pH, biological activity associated to phosphatase activity, cellulase, laccase activities, SBR and SBN. Many studies have already observed positive correlations between enzyme activity and organic carbon concentration or quality, or both (Aon and Colaneri 2001, Chaer et al. 2009). Organic carbon concentration was therefore proposed as an integrative indicator of soil quality (Birkhofer et al. 2008). The very low correlation between Olsen P and alkaline phosphatase activity was not surprising because phosphatase activity is associated with organic P transformation. Cultivated systems such as the selected agrosystem are regularly amended with inorganic P, which significantly reduces

phosphatase activity (Saha et al. 2008). Anti-correlation between available P and fungal abundance could underline the importance of fungal communities in nutrient cycling in SRC. The lower levels of P found under SRC can be due to the transition from inorganic to organic P (Chen et al. 2000). The parameters that discriminate land uses and heavily contribute to PCA axes could be integrated into a soil quality index as proposed by different authors (Brejda et al. 2000, Andrews et al. 2004, Rezaei et al. 2006) and provide a useful tool for land management and land users.

V. Conclusion

In this study, the impact of willow SRC compared to three other land uses (forest, grassland and agrosystem) was considered within the context of calcareous soil, which covers large areas in temperate regions. Our results enabled us to define footprints of the different land uses and showed that land use conversion from arable land to SRC already changed chemical, biochemical and biological parameters after three years. SRC was shown to promote most of the soil biological properties. Broad changes were observed in earthworm and microbial biological communities, suggesting a change in soil functioning. For many parameters, the values for SRC were higher than in the agrosystem but lower than in the forest and grassland, indicating a positive evolution of the soil in the SRC. Parameters such as laccase activity, C/N ratio, CEC associated to OM, discriminated a possible enhancing effect of willow SRC compared to the agrosystem after only one willow harvest. The evolution of the microbial community structure was also of interest, with the highest fungal / bacterial ratio in the willow SRC. In addition to fertility monitoring, such biological parameters represent potential bioindicators for soil quality assessment and farming management and should be investigated after longer periods of SRC farming.

Chapitre 4. Evolution temporelle de la qualité du sol sous une parcelle de TTCR comparée aux sols sous bandes enherbées, forêt alluviale et agrosystème conventionnel

Résumé

Dans le chapitre 3, des paramètres se sont révélés pertinents pour mesurer l'impact des TTCR sur le fonctionnement des sols, en particulier l'abondance fongique, l'activité laccase et les indicateurs liés aux communautés lombriciennes.

L'objectif de ce chapitre était de mesurer l'évolution temporelle de ces paramètres pertinents pour évaluer la qualité du sol sous TTCR. Pour répondre à cet objectif, trois indices de qualité des sols (IQS) ont été calculés : indice de fertilité, d'activité biologique et de communauté biologique. Comme dans le chapitre précédent, les résultats obtenus avec la parcelle de TTCR de Semuy sont comparés avec ceux des trois autres usages du sol (agrosystème, bande enherbée, forêt alluviale).

Les indices ont permis de valider les résultats du chapitre précédent dans un contexte dynamique et de positionner la parcelle de TTCR au sein du gradient anthropique d'usages des sols (Forêt>Bande Enherbée>TTCR>Agrosystème). D'autres indicateurs biologiques apparaissent pertinents, avec un poids élevé dans les calculs d'indices : la proportion de vers endogés, la diversité lombricienne, le rapport F:B, la respiration basale et les activités cellulase et glucosidase. Les indicateurs chimiques, qui ont les poids les plus élevés dans l'indice de fertilité, étaient les suivants : La concentration en MO, la CEC et le magnésium échangeable. Ce chapitre est l'objet d'un article qui sera soumis dans la revue Applied Soil Ecology.

Stauffer M, Leyval C, Brun JJ, Leportier P, Berthelin J Temporal evolution of soil quality under short rotation coppice as compared to forest, grassland and arable field.

Temporal evolution of soil quality under short rotation coppice as compared to forest, grassland and arable field.

Abstract

Despite many studies on the impact of Short Rotation Coppice (SRC) converted from arable land, there have been few studies combining chemical parameters with biological soil function. In addition reports on this agricultural practice and its impact on soil microbial communities are scarce. This study aimed at monitoring through time biological and chemical soil properties described as relevant indicators in a previous study with one sampling time (november 2010). Based on the evolution of parameters, the objective of this study was to calculate soil quality indices and compare the soil quality under the SRC plot with alluvial forest, grassland and arable field plots.

Samples were collected twice a year, in autumn and spring, between 2010 and spring of 2012, from field plots with four land uses (willow SRC, agrosystem, grassland and alluvial forest plots) on the same soil type in the Aisne valley (France). We measured various indicators involved in soil fertility, biological community and activity.

Indicators with highest weighed factors were endogenic worms, earthworm diversity and fungal/bacterial ratio for biological community indices, cellulase, glucosidase and soil basal respiration for biological activity indices and organic matter concentration, cationic exchange capacity and exchangeable Mg for fertility index. These results show that soil quality index calculation, based on selected indicators of the previous study, was relevant to the emphasis of cultivation gradient (forest > grassland > SRC > arable field). The SRC plot improved fertility and biological community indices compared to the agrosystem. The biological activity index of SRC plot, however, remained similar to arable field although soil basal

respiration and laccase activity in the SRC plot were higher than arable field. Soil Quality index can be considered as a new tool to improve agricultural management.

Key words: short rotation coppice, land use, *salix*, biological indicators, soil quality index, earthworm, microbial density, fertility, agricultural intensity

I. Introduction

Soils are subjected to an increased anthropic pressure through the production of energetic raw material which competes with food production (Hoogwijk et al. 2003, Gamborg et al. 2012). Consequences for soil are hazards of degradation including compaction, erosion, organic matter and nutrient decline, and loss in soil biodiversity (Tilman et al. 2001, Creamer et al. 2010). Among crops dedicated to energetic use, short rotation forestry is one of the most highly productive farming system (Ceulemans and Deraedt 1999, Hofmann-Schielle et al. 1999). Willow Short Rotation Coppice (SRC), can provide average yield ranging from 10 to 20 tons of dry matter per hectare and per year (Robinson et al. 2004, Wilkinson et al. 2007). Consequences of SRC crops on soil functioning has been already considered, SRC improve organic carbon stock (Fox 2000, Lockwell et al. 2012) and they increase earthworms, hymenoptera and hemiptera abundance (Makeschin 1992, Lagerlöf et al. 2011) or carabids and mites diversity (Minor et al. 2004, Rowe et al. 2011). On the contrary, limited effect on invertebrate diversity of SRC planted in polluted soil were observed (Hedde et al. 2013) and intensive land uses are considered to have a negative impact on microbial communities (decrease of abundance and diversity) and on their catabolic diversity which makes soils less resistant to stress or disturbance (Degens et al. 2001). In parallel, several studies showed that, following afforestation, the P and Mg cycles are efficient, the both elements pass in organic form (Chen et al. 2000, Meiresonne et al. 2007). Rather, N, K and the cation exchange capacity become one of the limiting factors for yield without nutrient input (Ledin 1998, Jug

et al. 1999a, Ens et al. 2013). Impacts need to be better defined; in particular, link biological community modifications and biogeochemical cycles should be of major interest to understand soil functioning under SRC crop. After conversion to SRC land use, the soil could return to the last steady state or surpass a threshold and shift from agrosystem to woodland with a new regulation capacity (Briske et al. 2003, Gordon et al. 2008).

Objective to upgrade soil SRC management requires an efficient monitoring and operational soil quality definition. The latter has progressed with the introduction of ecosystem service concept (Millennium Ecosystem Assessment 2005) It is currently defined as the soil capacity to function efficiently and be resilient to anthropic and climatic pressure, to sustain several services such as biogeochemical and water cycling regulation or animal and plant production (de Groot et al. 2010, Dominati et al. 2010). Many indicators can reflect the capacity of a soil to function efficiently, for example, a relationship between soil resilience and biodiversity has been suggested involving soil fauna (Naeem and Li 1997, Griffiths et al. 2000, Griffiths et al. 2001), or others like soil organic matter content or microbial activities and get used as soil quality indicators or to perform soil quality index (Andrews et al. 2002, Giacometti et al. 2013). However, thresholds values are still scarce for monitor soil quality, particularly concern biological indicators (Arshad and Martin 2002, Chaer et al. 2009), even if soil fauna population groups, structures, densities, biomass and diversity, plant health, microbial activity and community structures or enzymatic activities have been used as a complement to chemical ones to define agronomic soil quality (Nortcliff 2002, Bastida et al. 2008, Morvan et al. 2008). Some thresholds have already been defined for soil functioning and concern erosion or water retention in arid climate but are linked to change of vegetation dynamic (Ludwig et al. 2005, Enfors and Gordon 2007, Gordon et al. 2008).

To understand the impact of SRC on soil functions and quality, time scale studies (Berner et al. 2011, Lebrun et al. 2012), and thresholds controlling shift of soil properties and

functioning (Herrick et al. 2002, Bestelmeyer et al. 2003) should be considered. In a previous study (Stauffer et al. 2014) we assessed on a field site the impact of willow SRC after one harvest as compared to other land uses, *i.e.* grassland, forest and agrosystem on biological communities (earthworm, bacterial and fungal), enzyme activities, soil basal respiration and nitrification as well as physico-chemical parameters. For many biological parameters, the values for SRC were higher than in the agrosystem but lower than in the forest and grassland. Such biological parameters could represent potential bioindicators for soil quality assessment and farming management. This study aimed at measuring these parameters over a two-year period to validate these results over time and to define and discuss soil quality indices based on fertility, biological activity and community parameters.

II. Material and methods

II.1. Field experimental sites, sampling and soil analysis.

Four land use plots were monitored over two years on a field site (Stauffer et al. 2014) between autumn 2010 and spring 2012: a 3 ha willow Short Rotation Coppice (SRC) planted in spring 2006 with tora willow clone (*Salix schwerinii* x *S. viminalis*) on past maize field, a 2.5 ha of rotation wheat/rape/maize (Agrosystem A) on the other part of this previous maize field, a Grassland (G) and an alluvial Forest (F). Willows were harvested in winter 2008/2009 (8.5 t dry matter/ha), and in November 2011 (6.6 t /ha). All these land use plots were located on similar type of soil (fluvic cambisol) in the Aisne River Valley, in Ardennes department, North East of France (4°39'14"E, 49°28'54"N). Soil characteristics and agricultural practices are described in (Stauffer et al. 2014). Briefly, the soil has 90 % fine particles (clay and silt), the CEC is Ca saturated and water pH range between 7.3 for the grassland to 7.7 for the agrosystem plot. The soil of the latter was chemically amended (NPK) every year.

The soil sampling method was described previously (Stauffer et al. 2014). Soil samples were collected on each field in autumn 2010 (T1), spring 2011 (T2), autumn 2011 (T3) and spring 2012 (T4) at 0-15 cm depth using an auger. Three composite samples of 5 kg were obtained, each of them from 10 sampling points, along a 700 m grid, on each field soil. About 500g was stored at 4°C for biochemical analysis performed within 7 days after sampling as recommended by De Forest (2009); 10 g were stored at -80°C for microbial analysis and the last part was air-dried and sieved at 2 mm for physical and chemical analysis. The moisture content was determined by the weight loss after 48h drying at 100°C. Chemical soil analyses of CEC, exchangeable cations (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+), organic carbon (orgC), organic matter (OM), total C (totC), total N (totN), C/N, available phosphorus (P) were performed according to French and international normalized methods at INRA laboratory (Arras, France).

Daily weather data: rainfall (mm), average temperature and mean relative humidity, were recorded by a *Météo France* station located at Saulces-Champenoises (49°25'24''N, 40°29'30''E) approximately 10 km from the four studied plots (SRC, grassland, agrosystem, forest). The rainfall (cumulated for the 15 days before sampling) was: 54, 14, 19 and 19 mm for T1, T2, T3 and T4 respectively, while the sunshine period was 67, 613, 258, 392 min (on average over 15 days before sampling). The air moisture (about 90%) and daily average temperatures (on average 9°C) were similar between autumns. Air moisture was also similar for both springs (about 65%). The temperature was higher in T2 (14,5°C) than in T4 (9,0°C).

II.2. Biochemical analyses

II.2.1. Enzyme activities

The enzymes selected for this study are involved in N, P and C cycles: leucine amino peptidase (EC 3.4.11.1), uréase (amidohydrolase) (EC 3.5.1.5), alkaline phosphatase (EC 3.1.3.1), cellobiohydrolase (EC 3.2.1.91), β glucosidase (EC 3.2.1.21) and phenol oxidase

(EC 1.10.3.2), and in global microbial activity : fluorescein diacetate (FDA) hydrolysis (EC 3.1.1.x) involving ubiquitous esterase, lipase and protease activities (Green et al. 2006). Cellobiohydrolase, β glucosidase, alkaline phosphatase and leucine amino peptidase assays were adapted from Marx et al. (2001) and urease assays from Sinsabaugh et al. (2000). Substrates, buffers and standards for FDA hydrolysis measurements were adapted from Schnurer and Rosswall (1982) and Green et al. (2006). Laccase (phenol oxidase) activity was analyzed using the method of Floch et al. (2007). For each enzyme, the corresponding substrate and standard were obtained from Sigma-Aldrich Co. Ltd, in a crystalline form. Stock solutions of the substrates and calibration solutions of 4-methylumbelliferone (MUB), 7- amino-4-methyl coumarin (AMC), fluorescein and NH_4Cl solution were prepared analyses were performed as described in Stauffer et al. (2014). All enzyme activities were measured at all sampling time except for urease and leucine amino peptidase which were not analysed at the first sampling time.

Briefly, 2.5 g of fresh soil were suspended in 50 mL of appropriate buffer (Phosphate 0.1 M pH 7.5 for leucine-amino-peptidase and deionized water for urease) shaken for 10 min in an orbital incubator (Stuart Scientific SI50), then sonicated for 120s. Aliquots were dispensed in 6 replicates into black 96-well microplates (Greiner bio-one, Ref 655076) except for laccase and urease activity, measured in absorbance using black 96-well microplates with clear bottom (Ref 655096). Finally, substrate solutions (4-MUB- β -D-glucopyranoside, 4-MUB- β -D-cellobioside, 4-methylumbelliferyl-phosphate, L-Leucine-7-AMC, 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfononic acid (ABTS), FDA, Urea) were added to reach saturating concentrations. The microplates were stored at 28°C in the dark, then measurements were done at 60-min intervals for 360 min (Stauffer et al. 2014) except for urease activity where absorbance of ammonium salicylate was measured at 670 nm, one time after 3h at 25 °C. For

AMC-Substrates, fluorescence was measured with a spectrophotometer at excitation and emission wavelengths of 440 nm and 342 nm (Dick et al. 1996).

II.2.2. Soil Basal Respiration (SBR).

Microbial respiration rate was measured as described in Stauffer et al. (2014). 25g of fresh humid soil were placed in a sterile 250 mL plasma flask closed with a rubber stopper and incubated in the dark at 28°C during 3 days. Soil basal respiration (SBR) was measured daily and expressed as mg C-CO₂·h⁻¹·g⁻¹ dry soil. Carbon mineralisation rate was calculated (C-CO₂/orgC ‰).

II.3. Fungal and bacterial density and community structure

Bacterial and fungal density was estimated by DNA extraction followed by quantification of 16S and 18S rRNA gene copy numbers as described in Cébron et al. (2009) and Thion et al. (2012). Bacterial and fungal community structures were estimated using temporal temperature gradient electrophoresis (TTGE) analysis of the 16S or 18S rRNA genes as described in Cébron et al. (2009) and Thion et al. (2012). Detailed methods used were described in Stauffer et al. (2014) and applied for all the sampling times (1, 2, 3 and 4). The total fungal diversity could not be assessed using TTGE method but the Shannon diversity index (H') was calculated to compare fungal community over time for the different land uses (Hill et al. 2003).

$$H' = - \sum_{i=1} p_i \times \ln(p_i)$$

where p_i is the relative abundance of the ribotype i, and Ln is the Napierian logarithm.

II.4. Earthworms sampling and analyses

Earthworm sampling was performed in autumn 2010 (T1) and 2011 (T3) because the dry weather did not allow an efficient sampling in spring (T2 and T4). The method used Allylthiocyanate (AITC) (ACROS organic 94%, stabilized with 0.01% alpha-tocophenol), according to Zaborski (2003) with some modification presented in Stauffer et al. (2014). Shannon diversity index as described above was determined to compare the different land uses; p_i was the number of individuals in the species i over the total number of individuals in the sample.

II.5. Statistical analysis

All the parameters were compared using XL Stat 2012 Software (Addinsoft) with $\alpha \leq 0.05$ considering the average result of the replicates. Two-way analyses of variance (ANOVA) followed by the Newman–Keuls *post hoc* test were used to evaluate respectively the time (seasonal-annual) effect (T1, T2, T3, T4), land use effect (SRC, G, F, A) and their interaction on the different soil biological, biochemical or chemical parameters. F:B, ARNr gene copy number and mineralization rate data were arcsin–transformed for the statistical analyses. Principal component analyses (PCAs) were performed on the relative abundance of fungal ribotypes, using a Pearson correlation matrix. Three PCA were also performed on all the parameters included in the index, using a Pearson correlation matrix. The results of these statistical analyses were then used to calculate soil quality indices (SQI) as described below.

II.6. Soil quality indices (SQI)

There exist various methods to select the minimum data set (MDS), transform the parameters, and calculate indices (Andrews et al. 2002). We used a weighted additive index calculation method described by Velasquez et al. (2007), with some modifications. Only

parameters with statistically significant differences ($p < 0.05$) between land uses were taken into account to calculate the indices. When two parameters were correlated (correlation coefficient > 0.95), only one was included in the MDS. After MDS parameter selection, the results for each parameter were normalized before being included into the Soil Quality Index (SQI) and considered as indicators. When the highest value was considered “beneficial” to primary soil function, each observation value was divided by the highest observed value. The highest observed value received a score of 1. For ‘lower is better’ parameter (only for endogeic earthworm percentage), the lowest observed value was divided by each observation, so that the lowest observed value received a score of 1 (Liebig 2001, Bhardwaj et al. 2011). Endogeic worms proportion cannot be considered as indicator of soil degradation in polluted context because endogeic worms are often the most sensitive to the major pollutants (Frampton et al. 2006). Although endogeic worms have been found dominant in several PAH polluted soils (Pérès et al. 2011, Zavala-Cruz et al. 2013). However, in non-contaminated soil, in agricultural activity context, endogeic domination is a proxy of physical soil degradation (Chan 2001, Sepp et al. 2005, Ernst and Emmerling 2009). Scoring curves and indicators used in index are synthesized in table 4.1.

For each index (fertility, biological activity, biological community), a discriminant analysis (DA) was conducted to assess the ability of the selected parameters to significantly discriminate the four land-use systems (SRC, agrosystem, grassland and forest plots). A principal component analysis (PCA) was performed for each data set. Only principal components (PCs) with eigen values > 1 were included (Kaiser 1960). According to Rossi et al. (2009) squared eigen vectors (λ_j) multiplied by the percentages of variability explained by each PC related to the total variation of all the selected PCs (f_j) were used as weighting factors (w) for scored indicators.

$$W_i = \sum_{j=1}^n \lambda_j \times f_j$$

Where λ_j is the squared eigen vector of indicator i on PC j and f_j the % of variability explained by PC j .

The SQI for sample q is the sum of the n reduced and normalized parameters designated as indicator scores (S_1-S_n , with $n=9$ for the soil fertility index and biological community and $n=7$ for biological activity) multiplied by their respective weight in the determination of PC 1 and 2 (w_1-w_n) of the PCAs.

$$SQI = \sum_{i=1}^n S_i \times W_i$$

The variables selected to be included in soil fertility index were soil moisture (SM), OM, C/N, totC, P, Mg, Na, K, CEC, for biological activity: soil basal respiration (SBR), carbon mineralisation rate (CMR), cellulase (Case), alkaline phosphatase (Pase), β glucosidase (Gase), laccase (Lase) and FDA hydrolysis, and for biological community indices, variables were 16S ARNr gene copy number (G16S), F:B ratio (18S/16S ARNr gene copy number), fungi diversity ($H'18S$), diversity, biomass and density of earthworm (ewmH', ewmB, ewmD) and % of epigeic, anecic and endogeic earthworms (epi, ane, end). Indices calculations were performed for biological activity index with or without activities in N cycle (leucine amino peptidase and urease) at the three last sampling times. The results were not significantly different (data not shown), so these two enzymes were not included in the analysis.

Table 4.1 : Indicators list integrated in the three soil quality index: their abbreviations, scoring curves, weighted factor (Wi) and ranking.

SQIs	indicators	figures abbreviations	scoring curves	Wi %	indicators ranking
fertility	soil moisture	SM	more is better	10.3	OM
	organic matter	OM		12.3	CEC
	C/N	C/N		11.8	Mg
	total C	totC		11.3	C/N
	available phosphorus	P		10.9	totC
	exchangeable Mg	Mg		11.8	K
	exchangeable Na	Na		8.2	P
	exchangeable K	K		11.0	SM
	cation exchange capacity	CEC		12.2	Na
biological activity	soil basal respiration	SBR	more is better	16.6	Case
	carbon mineralisation rate	CMR		11.7	Gase
	phosphatase activity	Pase		15.7	SBR
	β glucosidase activity	Gase		17.2	Pase
	cellulase activity	Case		17.3	FDA
	FDA hydrolysis	FDA		12.6	CMR
	laccase activity	Lase		8.9	Lase
biological community	bacterial density	G16S	more is better	11.8	end
	fungal on bacterial ratio	F:B		12.6	ewmH'
	fungal diversity	H'18S		11.0	F:B
	earthworm biomass	ewmB		12.4	ewmB
	earthworm density	ewmD		4.8	G16S
	earthworm diversity	ewmH'		13.8	H'18S
	epigeic percentage	epi		8.9	ane
	aneic percentage	ane		9.4	epi
		endogeic percentage		end	less is better

III. Results

III.1. Soil chemical properties and fertility parameters

The values of soil fertility parameters were significantly different for the four sampling times over two years and significantly discriminated the four land uses (table 1,

figure 4.1), in particular organic matter, total N, available P, exchangeable Mg concentrations and soil moisture.

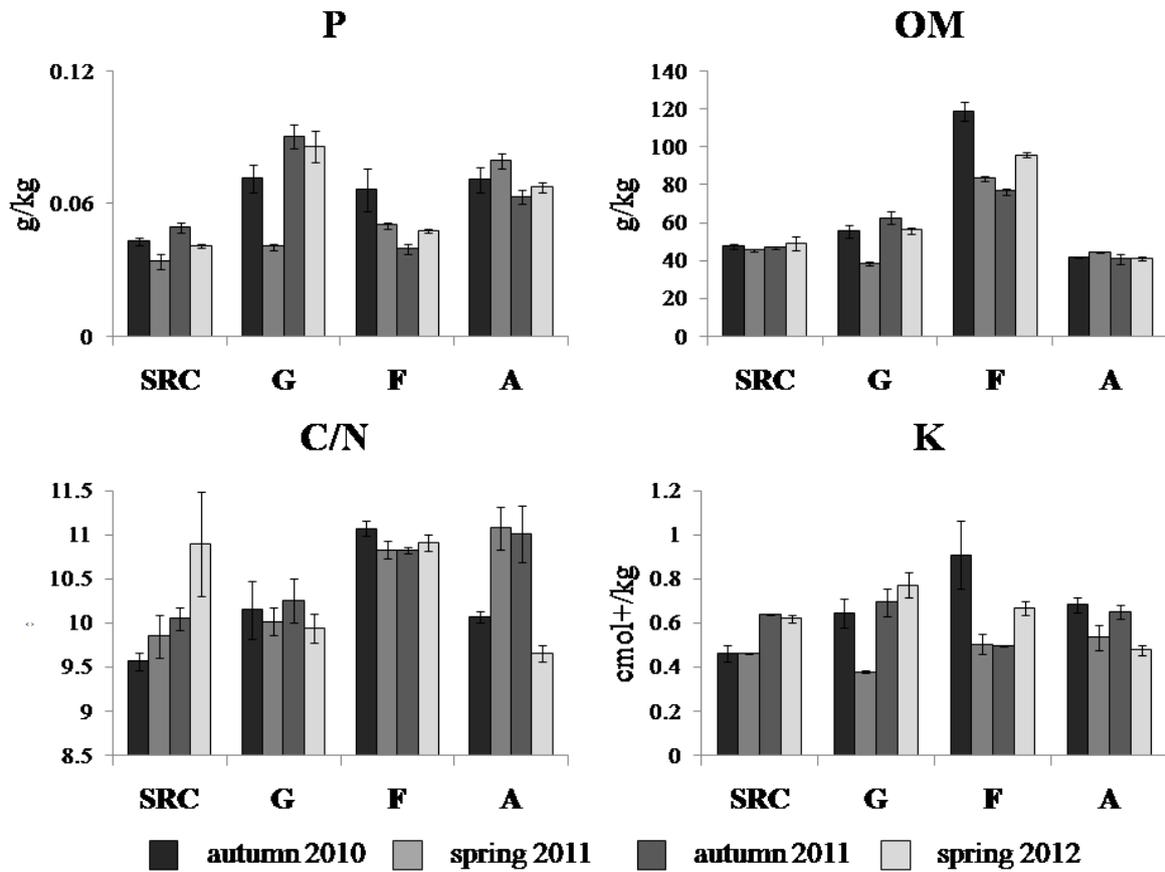


Figure 4.1: Example of the evolution over two years of some fertility parameters (available P, Organic Matter, C/N and exchangeable K) under the four lands uses (Short Rotation Coppice, Grassland, Forest and Agrosystème).

The other fertility parameters were less discriminating like C/N, CEC and exchangeable Ca, Na, K and total C concentration. The soil under forest always had the highest values except for available phosphorus concentration. Soil moisture, organic matter, total N, exchangeable Ca, Mg, Na concentration and CEC in the SRC plot were significantly higher than in the agrosystem and lower than in grassland and forest plot (or similar for Na). On the contrary C/N and available P and total C concentration were lower in the SRC than in the other land uses soils. Exchangeable K concentration was similar between the SRC and the agrosystem. All parameters varied significantly over time, except exchangeable Na. Significant

interactions between the sampling time and the land use were observed for soil moisture, total C, total N, available P and exchangeable Ca, Mg and K concentration for the four land uses (data not shown). But variations were neither seasonal nor chronological except for total N which decreased and C/N which increased over time and in the SRC plot (figure 4.1). There was no variation over time in organic matter concentration in SRC and agrosystem soils while it decreased and then increased for soils of the grassland and forest plots. C/N variations were significant in SRC and agrosystem soils but not for those of grassland and forest plots. The full data set shows significant correlations between organic matter concentration and soil moisture, exchangeable Mg, total C, CEC, exchangeable Ca and total N at respectively $r=0,71$; $0,83$; $0,88$; $0,89$; $0,90$ and $0,99$. CEC and exchangeable Ca were correlated at $1,00$ (supplemental data, table S1). Consequently, soil moisture, organic matter concentration, C/N, total C, available P, exchangeable Mg, Na, K and CEC were taken into account to calculate the fertility index. Exchangeable Ca and total N concentration were not included in the MDS because their correlation coefficient with CEC and organic matter respectively overtook $0,95$.

III.2. Soil biological and biochemical activities.

All the biological and biochemical activities discriminated the land uses except the leucine amino peptidase enzyme activity (table 4.2). As a consequence, the latter was not included in the biological activity index. As for fertility parameters, the higher values were observed for the forest plot and values of SRC plot were always lower except for the carbon mineralisation rate. Phosphatase, β glucosidase, cellulase, urease, FDA hydrolysis soil activities and the carbone mineralisation rate were similar between in the SRC and agrosystem soils. In contrast, the soil basal respiration was equivalent between the SRC and grassland plots, and higher than in the agrosystem soil. Laccase activity was higher in the SRC soil than in the grassland and agrosystem soils (figure 4.2).

Table 4.2: Result of two-ways (time and land use) ANOVAS, average values of soil parameters over the four seasons (n=12), different letter indicating significant differences ($P < 0.05$, $ < 0.01$, $*** < 0.001$, $**** < 0.0001$), 1 (autumn 2010), 2 (spring 2011), 3 (autumn 2011), 4 (spring 2012).**

	SRC				G			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Fertility								
Soil Moisture (%)	30.1 ± 2.5	19.4 ± 0.8	24.5 ± 2.0	26.0 ± 2.3	29.4 ± 1.4	18.4 ± 0.9	26.1 ± 2.5	29.5 ± 2.4
orgC (g/kg)	27.5 ± 1.0	26.4 ± 0.3	27.2 ± 0.2	28.5 ± 2.0	32.1 ± 1.8	22.4 ± 0.5	36.2 ± 2.0	32.4 ± 1.0
OM (g/kg)	47.5 ± 1.5	45.6 ± 0.4	47.0 ± 0.4	49.3 ± 3.7	55.6 ± 3.2	38.7 ± 0.9	62.7 ± 3.4	56.1 ± 1.7
C/N	9.6 ± 0.1	9.9 ± 0.2	10.1 ± 0.1	10.9 ± 0.6	10.2 ± 0.3	10.0 ± 0.2	10.3 ± 0.3	9.9 ± 0.2
totC (g/kg)	38.6 ± 1.3	38.2 ± 0.4	43.4 ± 0.1	37.2 ± 0.6	48.1 ± 1.9	38.4 ± 0.3	46.4 ± 1.5	43.3 ± 1.0
totN (g/kg)	2.87 ± 0.07	2.68 ± 0.04	2.70 ± 0.04	2.62 ± 0.05	3.16 ± 0.09	2.24 ± 0.06	3.53 ± 0.14	3.26 ± 0.07
P (g/kg)	0.043 ± 0.002	0.034 ± 0.003	0.049 ± 0.002	0.041 ± 0.001	0.072 ± 0.006	0.041 ± 0.002	0.091 ± 0.006	0.086 ± 0.007
Ca (cmol+/kg)	34.7 ± 0.9	38.8 ± 0.5	32.2 ± 0.2	38.6 ± 0.3	36.2 ± 1.4	31.9 ± 0.3	41.4 ± 0.3	39.4 ± 0.3
Mg (cmol+/kg)	0.93 ± 0.01	0.86 ± 0.04	1.13 ± 0.03	0.94 ± 0.01	1.23 ± 0.05	0.84 ± 0.01	1.44 ± 0.03	1.35 ± 0.01
Na (cmol+/kg)	0.11 ± 0.01	0.10 ± 0.00	0.08 ± 0.01	0.13 ± 0.10	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.15 ± 0.04	0.10 ± 0.00
K (cmol+/kg)	0.46 ± 0.04	0.46 ± 0.00	0.64 ± 0.01	0.62 ± 0.02	0.65 ± 0.07	0.38 ± 0.01	0.70 ± 0.06	0.77 ± 0.06
CEC (cmol+/kg)	34.7 ± 0.8	38.2 ± 0.7	32.3 ± 0.3	37.9 ± 0.3	35.3 ± 1.0	31.8 ± 0.3	40.6 ± 0.1	39.0 ± 0.3
Biological activity								
SBR (g C-CO ₂ g dry soil ⁻¹ min ⁻¹)	1.2.10 ⁻⁸ ± 4.9.10 ⁻⁹	8.7.10 ⁻⁹ ± 2.3.10 ⁻⁹	1.1.10 ⁻⁸ ± 2.6.10 ⁻⁹	1.6.10 ⁻⁸ ± 3.0.10 ⁻⁹	1.2.10 ⁻⁸ ± 1.2.10 ⁻⁹	2.1.10 ⁻⁸ ± 3.6.10 ⁻⁹	1.1.10 ⁻⁸ ± 6.3.10 ⁻¹⁰	1.4.10 ⁻⁸ ± 3.1.10 ⁻⁹
CMR (%)	5.0 ± 1.9	3.5 ± 0.7	4.5 ± 1.0	7.0 ± 0.6	4.4 ± 0.2	8.6 ± 1.2	3.5 ± 0.3	5.4 ± 0.7
Phosphatase (mU)	3.3 ± 1.1	1.2 ± 0.2	8.4 ± 2.1	0.8 ± 0.1	4.2 ± 0.6	1.7 ± 0.2	7.7 ± 2.1	1.5 ± 0.1
Glucosidase (mU)	4.1 ± 1.7	5.4 ± 2.3	38.7 ± 10.7	4.4 ± 1.2	10.1 ± 1.9	14.8 ± 3.3	45.3 ± 20.4	11.0 ± 1.7
Cellulase (mU)	1.2 ± 0.7	1.2 ± 0.7	8.9 ± 3.8	0.8 ± 0.4	4.9 ± 1.7	4.0 ± 0.7	10.1 ± 5.0	2.2 ± 0.2
FDA (mU)	3.4 ± 0.5	4.0 ± 0.4	3.7 ± 0.4	3.7 ± 0.3	5.7 ± 1.6	4.5 ± 0.8	6.3 ± 1.6	5.0 ± 0.8
Laccase (mU)	149.8 ± 25.6	44.2 ± 2.2	51.7 ± 5.6	200.7 ± 17.9	121.7 ± 11.3	45.1 ± 1.9	49.6 ± 19.8	147.8 ± 11.6
Leucine amino peptidase (mU)		5.7 ± 1.6	75.7 ± 24.4	5.1 ± 1.5		7.8 ± 0.9	84.3 ± 22.2	7.1 ± 1.0
Urease (mU)		65.5 ± 20.5	116.7 ± 27.3	103.0 ± 6.1		130.7 ± 7.3	162.0 ± 30.0	179.2 ± 50.4
Biological community								
G16S (ARNr 16S gene copy number)	9.6.10 ⁸ ± 2.1.10 ⁶	1.1.10 ⁹ ± 1.9.10 ⁶	6.7.10 ⁸ ± 1.4.10 ⁶	8.9.10 ⁸ ± 1.7.10 ⁶	1.5.10 ⁹ ± 3.7.10 ⁶	1.2.10 ⁹ ± 1.0.10 ⁶	1.2.10 ⁹ ± 9.0.10 ⁵	1.1.10 ⁹ ± 2.9.10 ⁶
G18S (ARNr 18S gene copy number)	1.2.10 ⁷ ± 4.3.10 ⁴	1.1.10 ⁷ ± 2.3.10 ⁴	1.4.10 ⁷ ± 6.6.10 ⁴	4.9.10 ⁶ ± 2.0.10 ⁴	3.4.10 ⁶ ± 8.3.10 ³	6.5.10 ⁶ ± 2.4.10 ⁴	2.8.10 ⁶ ± 1.6.10 ⁴	1.6.10 ⁷ ± 2.7.10 ⁵
F:B	1.2 ± 0.2	1.0 ± 0.0	2.0 ± 0.6	0.6 ± 0.3	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.2	2.0 ± 3.4
H'18S	1.5 ± 0.4	1.7 ± 0.3	1.5 ± 0.1	1.7 ± 0.0	1.9 ± 0.1	2.1 ± 0.2	1.8 ± 0.1	1.5 ± 0.1
ewmB (g.m ⁻²)	38.8 ± 5.7		54.8 ± 16.0		111.3 ± 4.3		97.7 ± 58.6	
ewmD (ind.m-2)	166 ± 12		115 ± 22		115 ± 5		181 ± 93	
ewmH'	1.7 ± 0.1		1.8 ± 0.1		1.9 ± 0.1		1.8 ± 0.1	
epi (%)	27.3 ± 8.3		20.1 ± 7.8		32.4 ± 9.2		36.2 ± 6.9	
ane (%)	54.9 ± 11.9		67.5 ± 15.9		61.3 ± 8.5		56.7 ± 6.9	
end (%)	17.8 ± 3.8		12.5 ± 8.8		6.4 ± 2.5		7.1 ± 5.5	

Table 4.2 :

	F				A			
	T1	T2	T3	T4	A	T2	T3	T4
Fertility								
Soil Moisture (%)	34.8 ± 3.2	28.6 ± 1.4	28.1 ± 4.3	35.8 ± 3.1	25.7 ± 0.4	11.8 ± 0.9	20.8 ± 1.1	24.9 ± 0.1
orgC (g/kg)	68.8 ± 3.1	48.3 ± 0.9	44.4 ± 1.0	55.4 ± 0.8	24.1 ± 0.2	25.8 ± 0.3	23.8 ± 1.5	23.8 ± 0.6
OM (g/kg)	119.0 ± 5.3	83.5 ± 1.5	76.8 ± 1.7	95.8 ± 1.4	41.7 ± 0.3	44.7 ± 0.6	41.2 ± 2.6	41.1 ± 1.1
C/N	11.1 ± 0.1	10.8 ± 0.1	10.8 ± 0.0	10.9 ± 0.1	10.1 ± 0.1	11.1 ± 0.3	11.0 ± 0.3	9.7 ± 0.1
totC (g/kg)	76.3 ± 3.2	57.6 ± 0.7	52.7 ± 1.0	63.9 ± 0.7	50.1 ± 1.3	52.3 ± 0.9	47.5 ± 0.8	31.3 ± 0.4
totN (g/kg)	6.21 ± 0.23	4.46 ± 0.09	4.10 ± 0.09	5.07 ± 0.04	2.40 ± 0.03	2.33 ± 0.06	2.16 ± 0.08	2.46 ± 0.06
P (g/kg)	0.066 ± 0.010	0.050 ± 0.002	0.040 ± 0.003	0.048 ± 0.001	0.071 ± 0.006	0.080 ± 0.004	0.063 ± 0.003	0.068 ± 0.002
Ca (cmol+/kg)	58.3 ± 0.2	50.5 ± 0.4	51.1 ± 0.8	55.3 ± 2.8	22.4 ± 0.8	22.1 ± 0.2	22.0 ± 0.4	28.5 ± 0.2
Mg (cmol+/kg)	1.84 ± 0.12	1.38 ± 0.03	1.29 ± 0.02	1.40 ± 0.11	0.58 ± 0.01	0.55 ± 0.01	0.55 ± 0.02	0.79 ± 0.03
Na (cmol+/kg)	0.13 ± 0.01	0.13 ± 0.00	0.14 ± 0.00	0.12 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.08 ± 0.04	0.07 ± 0.00
K (cmol+/kg)	0.61 ± 0.54	0.51 ± 0.05	0.50 ± 0.00	0.67 ± 0.03	0.68 ± 0.04	0.54 ± 0.06	0.65 ± 0.03	0.48 ± 0.02
CEC (cmol+/kg)	55.3 ± 1.8	50.1 ± 0.7	51.1 ± 1.2	51.7 ± 0.5	22.3 ± 0.4	21.8 ± 0.2	21.4 ± 0.5	28.6 ± 0.3
Biological activity								
SBR (g C-CO2.gdry soil-1.min-1)	3.1.10 ⁻⁸ ± 4.8.10 ⁻⁹	4.4.10 ⁻⁸ ± 5.1.10 ⁻⁹	1.8.10 ⁻⁸ ± 7.9.10 ⁻⁹	3.1.10 ⁻⁸ ± 1.2.10 ⁻⁸	6.0.10 ⁻⁹ ± 1.9.10 ⁻⁹	5.4.10 ⁻⁹ ± 1.2.10 ⁻⁹	5.9.10 ⁻⁹ ± 2.6.10 ⁻⁹	1.7.10 ⁻⁸ ± 3.0.10 ⁻⁹
CMR (%)	4.4 ± 0.6	8.3 ± 1.1	4.4 ± 1.7	6.4 ± 2.1	3.3 ± 0.7	2.5 ± 0.5	3.2 ± 1.0	9.2 ± 1.2
Phosphatase (mU)	7.7 ± 3.8	2.6 ± 0.2	13.9 ± 4.8	1.3 ± 0.2	1.4 ± 0.3	1.4 ± 0.1	5.9 ± 0.5	0.6 ± 0.0
Glucosidase (mU)	11.4 ± 3.7	15.6 ± 0.4	71.8 ± 3.8	8.4 ± 1.5	12.1 ± 1.8	12.2 ± 0.4	46.3 ± 3.3	4.4 ± 0.8
Cellulase (mU)	3.3 ± 1.5	4.4 ± 0.6	20.8 ± 4.1	1.6 ± 0.4	1.6 ± 0.2	3.2 ± 0.2	10.1 ± 3.1	1.0 ± 0.3
FDA (mU)	4.9 ± 0.1	8.9 ± 2.5	7.3 ± 0.7	5.3 ± 0.6	1.8 ± 0.1	3.9 ± 0.2	4.6 ± 0.5	3.5 ± 0.6
Laccase (mU)	202.2 ± 42.0	116.5 ± 0.7	101.8 ± 30.6	227.3 ± 40.2	84.0 ± 12.0	12.8 ± 1.8	13.4 ± 5.4	95.4 ± 24.8
Leucine amino peptidase (mU)		11.8 ± 2.3	88.7 ± 27.1	10.3 ± 3.8		7.1 ± 0.4	59.8 ± 5.8	5.7 ± 0.8
Urease (mU)		186.6 ± 5.2	167.5 ± 33.4	253.8 ± 68.3		53.5 ± 16.8	141.8 ± 6.1	136.1 ± 22.0
Biological community								
G16S (ARNr 16S gene copy number)	1.4.10 ⁹ ± 1.4.10 ⁶	1.6.10 ⁹ ± 4.9.10 ⁶	1.1.10 ⁹ ± 4.7.10 ⁶	1.1.10 ⁹ ± 3.2.10 ⁶	1.2.10 ⁹ ± 3.6.10 ⁶	9.6.10 ⁸ ± 2.2.10 ⁶	6.4.10 ⁸ ± 1.3.10 ⁶	6.4.10 ⁸ ± 2.2.10 ⁶
G18S (ARNr 18S gene copy number)	6.3.10 ⁶ ± 9.5.10 ³	6.5.10 ⁶ ± 1.6.10 ⁴	1.4.10 ⁷ ± 1.0.10 ⁵	2.9.10 ⁶ ± 1.9.10 ⁴	9.5.10 ⁵ ± 3.7.10 ³	3.1.10 ⁶ ± 1.5.10 ⁴	1.3.10 ⁶ ± 6.9.10 ³	7.6.10 ⁵ ± 1.4.10 ³
F:B	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1	1.8 ± 1.7	0.3 ± 0.3	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0
H'18S	1.9 ± 0.0	1.9 ± 0.4	1.8 ± 0.2	1.3 ± 0.4	1.8 ± 0.1	2.0 ± 0.2	1.7 ± 0.2	0.7 ± 0.0
ewmB (g.m ⁻²)	84.4 ± 5.2		59.9 ± 7.2		36.8 ± 2.2		26.7 ± 3.0	
ewmD (ind.m-2)	95 ± 8		103 ± 32		58 ± 7		83 ± 12	
ewmH'	1.8 ± 0.2		2.1 ± 0.2		1.3 ± 0.2		1.3 ± 0.2	
epi (%)	25.7 ± 9.1		33.6 ± 5.0		16.2 ± 3.8		3.4 ± 3.7	
ane (%)	72.9 ± 7.9		59.4 ± 9.6		31.7 ± 9.2		41.1 ± 5.5	
end (%)	1.5 ± 1.3		7.0 ± 5.2		52.1 ± 11.8		55.5 ± 9.1	

Table 4.2:

	land use effect				P- value	time effect				P- value
	SRC	G	F	A		1	2	3	4	
Fertility										
Soil Moisture (%)	B	B	A	C	****	A	C	B	A	****
orgC (g/kg)	C	B	A	D	****	A	D	C	B	***
OM (g/kg)	C	B	A	D	****	A	D	C	B	***
C/N	C	C	A	B	**	B	AB	A	AB	**
totC (g/kg)	D	C	A	B	*	A	B	B	C	****
totN (g/kg)	C	B	A	D	****	A	D	C	B	****
P (g/kg)	C	A	B	A	****	A	B	A	A	****
Ca (cmol+/kg)	C	B	A	D	**	B	D	C	A	*
Mg (cmol+/kg)	C	B	A	D	****	A	B	A	A	****
Na (cmol+/kg)	A	A	A	B	**	A	A	A	A	X
K (cmol+/kg)	B	A	A	AB	*	A	B	A	A	****
CEC (cmol+/kg)	C	B	A	D	**	B	C	B	A	****
Biological activity										
SBR (g C-CO ₂ .gdry soil-1.min-1)	B	B	A	C	***	BC	AB	C	A	*
CMR (‰)	AB	AB	A	B	*	C	B	C	A	**
Phosphatase (mU)	B	B	A	B	**	B	C	A	C	**
Glucosidase (mU)	B	AB	A	AB	**	B	B	A	B	****
Cellulase (mU)	C	B	A	BC	*	B	B	A	B	****
FDA (mU)	C	B	A	C	**	B	A	A	B	*
Laccase (mU)	B	C	A	D	*	B	C	C	A	**
Leucine amino peptidase (mU)	A	A	A	A	X	–	B	A	B	****
Urease (mU)	C	B	A	C	**	–	B	A	A	**
Biological community										
G16S (ARNr 16S gene copy number)	B	A	A	B	**	A	A	B	B	*
G18S (ARNr 18S gene copy number)	A	AB	AB	B	*	AB	A	AB	B	**
F:B	A	AB	AB	B	***	A	A	A	A	X
H'18S	B	A	AB	B	*	B	A	B	C	****
ewmB (g.m ⁻²)	BC	A	B	C	*	A	–	A	–	X
ewmD (ind.m-2)	A	A	AB	B	*	A	–	A	–	X
ewmH'	B	AB	A	C	*	A	–	A	–	X
epi (%)	B	A	AB	C	*	A	–	A	–	X
ane (%)	A	A	A	B	***	A	–	A	–	X
end (%)	B	BC	C	A	*	A	–	A	–	X

Significantly higher phosphatase activity values were observed in autumn (table 4.2, figure 4.2) and higher carbon mineralization rates in spring (table 4.2). For the other parameters, the significant time effect was not due to a seasonal effect. Enzymatic activities, except laccase were higher in autumn 2011, whereas the soil basal respiration and the carbon mineralisation rate were higher in spring 2012 (table 4.2, figure 4.2). Significant interactions between time and land uses were observed for all land uses for the carbon mineralisation rate and the phosphatase, β glucosidase, cellulase, laccase and leucine-amino-peptidase soil activities (data not shown). Phosphatase soil activity fluctuation was seasonal for the SRC and forest plot (figure 4.2). This activity and two other carbon cycle activities (β glucosidase and cellulase) were significantly higher for all land uses in autumn 2011.

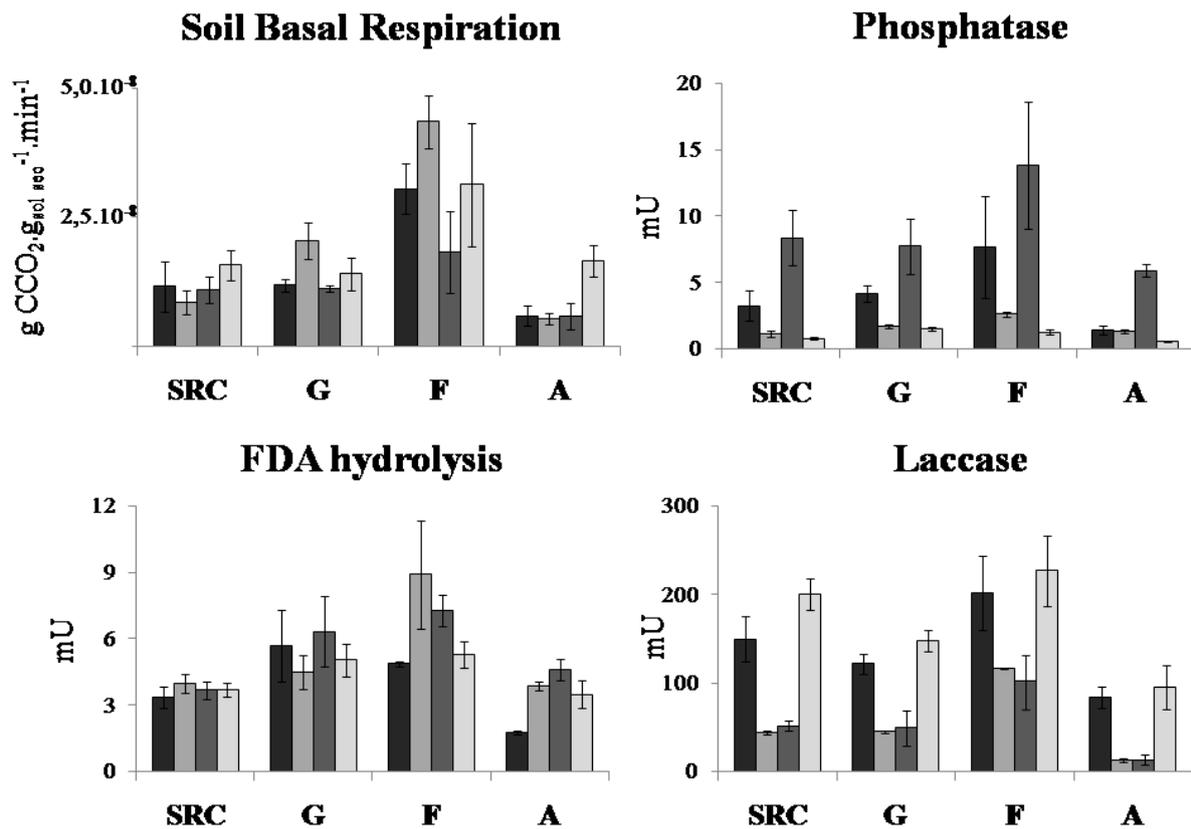


Figure 4.2 : Example of the evolution over two years of some biological parameters for the four land uses (Short Rotation Coppice, Grassland, Forest and Agrosystème)

Cellulase, β glucosidase and phosphatase soil activities were correlated at $r > 0,80$ and the carbon mineralisation rate with the soil basal respiration at $r = 0,59$ (supplemental data, table

S1). Soil basal respiration, carbon mineralisation rate, phosphatase, β glucosidase, cellulase, FDA hydrolysis and laccase soil activities were then included in the soil biological activity index.

III.3. Biological communities (earthworms, fungi and bacteria)

SRC earthworm biomass was between agrosystem and forest soil biomass (table 4.2). These three land uses displayed lower values than in the grassland soil. Earthworm density was equivalent in the SRC and grassland plot and higher than in the agrosystem soil with the forest earthworm density between the two. The percentages of epigeic earthworms and earthworm diversity were higher in the SRC soil than in the agrosystem (table 4.2, figure 4.3a). Percentage of anecic earthworms was similar for the SRC, grassland and forest crops, and higher than in the agrosystem. In contrast, endogeic earthworm percentage was higher in the agrosystem soil than in the other land uses. There was no significant variation in earthworm community parameters between the two autumn 2010 and 2011, except a decreased percentage of epigeic earthworms in the agrosystem soil (figure 4.3a).

Soil bacterial density (estimated by the 16S ARNr gene copy number per gram of dry soil) was similar for the SRC and agrosystem plots both lower than in the forest and grassland soil (table 4.2). On the contrary, soil fungal density, estimated by the 18S ARNr gene copy number per gram of dry soil, and the fungal on bacterial ratios were higher in the SRC soil compared with the other three land uses (table 4.2, figure 4.3b). Fungal diversity estimated by Shannon index was similar for the SRC, agrosystem and forest plots, which were lower than in the grassland soil. Fungal on bacterial ratios did not vary over time. Soil microbial density and fungal diversity variations over time were not seasonal. Fungal diversity was significantly lower in spring 2012 (table 4.2, figure 4.3). Significant variations between time and land uses were observed for fungal diversity which decreased between the autumn 2010 and the spring

2012 in the agrosystem and grassland soils, but no significant variation has been observed in SRC plot for biological communities (data not shown).

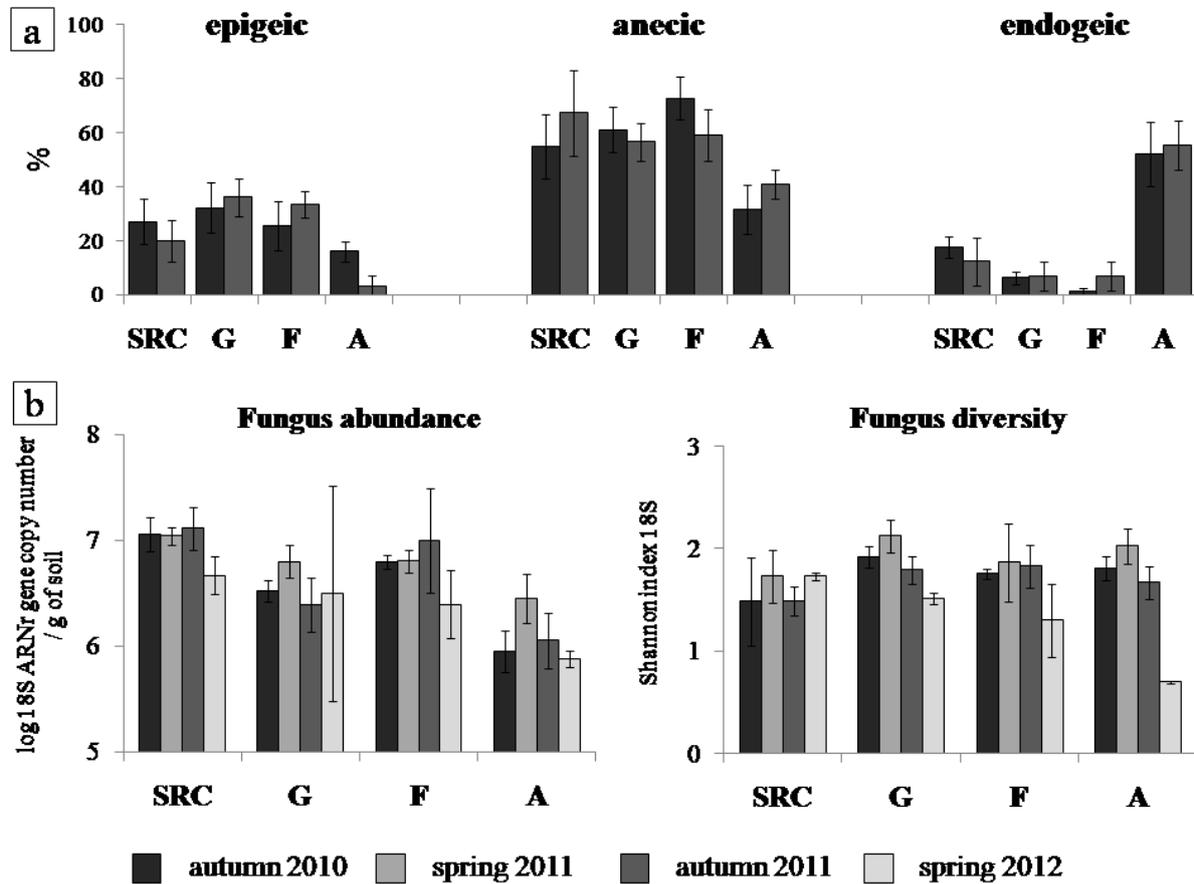


Figure 4.3: Example of evolution over two years of some biological community parameters for the four land uses (Short Rotation Coppice, Grassland, Forest and Agrosystème). a earthworm community and b. Fungus community.

Biological community index was only calculated for the autumn samplings (T1 and T3), using the following parameters: bacterial density, fungal on bacterial ratio, fungal diversity, earthworm biomass, density and diversity, epigeic, anecic and endogeic percentage. G18S were not included in the MDS because his correlation coefficient with F:B ratios overtook 0,95.

III.4. Evolution of soil parameters with sampling times.

Considering all the selected parameters, the PCA analysis showed an evolution with time of the four land use soils (figure 4.4).

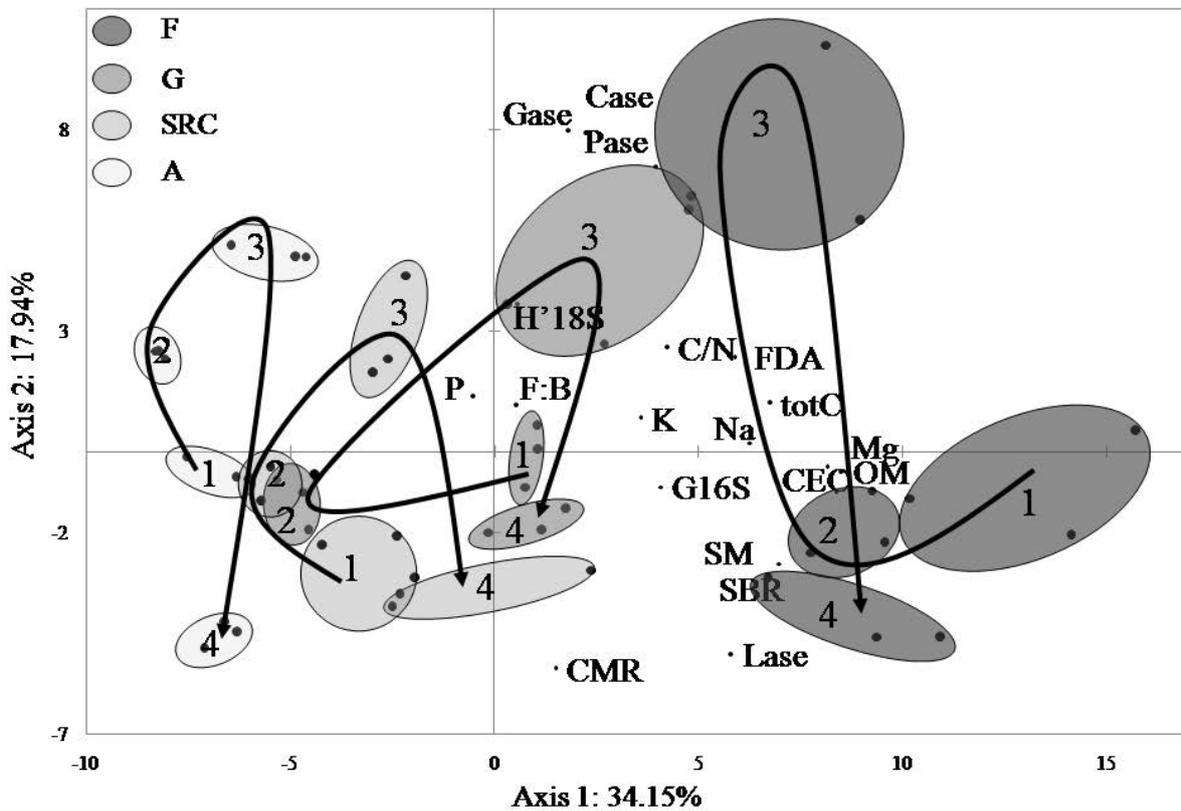


Figure 4.4: PCA performed on the four land uses Short Rotation Coppice (SRC), Grassland (G), Forest (F) and Agrosystem (A) over two years of sampling : autumn 2010 (1), spring 2011 (2), autumn 2011 (3) and spring 2012 (4). Parameters involved in the three indices are taken into account (SM Soil Moisture, orgC, OM, totC, P, exchangeable cations, CEC, SBR soil basal respiration, CMR : Carbon Mineralisation Rate, Pase, Gase, Case, FDA, Lase: phosphatase, glucosidase, cellulase, FDA hydrolysis, laccase enzymatic activities, G16S, ARNr 16S gene copy number, Fungal on bacterial ratio, F:B, H'18S : fungus diversity indice). Parameters measured on earthworm communities are not included. The first axe represents 34.15% of variability and the second axe 17,94%.

The land uses were discriminated along the first axis of the PCA (agrosystem < SRC ≤ grassland < forest). The time evolution was mainly explained along the axis 2 by the β glucosidase, cellulase, and phosphatase soil enzymatic activities which were higher in autumn 2011 (T3) than at the other sampling times (table 4.2).

In addition there were correlations between fertility and biological activity parameters (supplemental data, table S1). Organic matter was significantly correlated with many

biological activities (soil basal respiration, laccase, phosphatase, FDA hydrolysis) and also with anecic earthworm percentage and earthworm diversity. In parallel the soil basal respiration, carbon mineralisation rate, bacterial density and the anecic and epigeic earthworm percentage were correlated with the soil moisture ($r=0,83$; $0,59$; $0,48$; $0,48$ and $0,41$). Available phosphorus and fungal density or fungal on bacterial ratio were anticorrelated at $r = -0,65$ and -0.61 respectively.

After the second harvest of the SRC plot, in spring 2012 (T4), this anticorrelation was not observed anymore (data not shown). In autumn 2011 (T3), cellulase, β glucosidase and phosphatase soil enzymatic activities were correlated with bacterial density with coefficient $r=0,6$; $0,8$; $0,8$ respectively (data not shown).

III.5. Soil Quality Indices

According to results of variance analysis between land uses over time and parameters correlations, the indices of fertility, biological activity and biological community were calculated (figure 4.5). Several parameters which were strongly correlated (total N with organic matter, exchangeable Ca with CEC and fungal density with fungal on bacterial ratio) and reflected similar processes or stock, have not been included in the index calculation (cf. 3.1 and 3.3). Indicators included in the index and their weighting factors in every time were summarized in table 4.1. The organic matter concentration, CEC and exchangeable Mg were the most discriminating parameters to calculate the fertility index. For the biological activity index, the first three were cellulase, β glucosidase and soil basal respiration soil activities, and for the biological community index it were endogeic percentage, earthworm diversity and fungal on bacterial ratio (table 4.1).

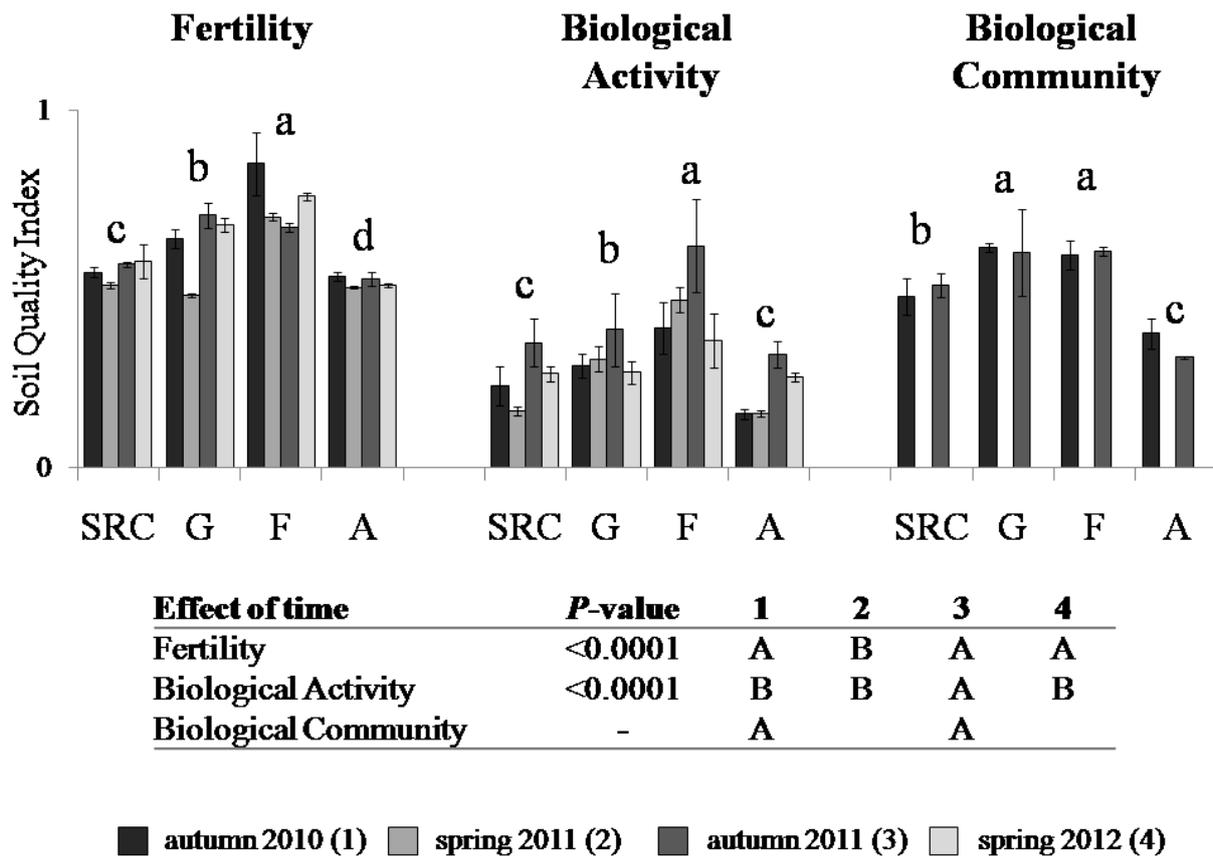


Figure 4.5: Soil quality indices of fertility, biological activity and biological community from autumn 2010 to spring 2012 for the four land uses: Short Rotation Coppice (SRC), Grassland (G), Forest (F) and Agrosystem (A). Letter on the graphic show significant differences at $p < 0.0001$ for the fertility index, < 0.05 for the biological activity index and < 0.01 for the biological community index of land use effect of two way anovas. Results of time effect are showed in the table below.

Fertility and biological community indices for the SRC plot were higher than in the agrosystem soil and lower than in the grassland and forest soils. Soil biological activity index was not significantly different between the SRC plot and the agrosystem and it was higher in the grassland and the highest in the forest soil. The biological community index did not change between the two autumns. Significant variations with time of the fertility (lower in T2) and the biological activity (higher in T3) indices were observed (figure 4.5) especially for the forest and grassland plots (data not shown). However, there was no clear seasonal or chronological effect. Fertility and biological activity indices are correlated at 0,6 ($p < 0.0001$), fertility and biological community indices at 0,7 ($p < 0.001$) and biological community and biological activity indices at 0,4 ($p < 0.05$)

IV. Discussion

IV.1. Nutrient cycle efficiency under SRC

Previous results based on one sampling three years after SRC plantation showed that organic matter concentration, total N, available P and exchangeable Mg and K concentration in the SRC soil were lower or similar than in the agrosystem (Stauffer et al. 2014). Over time, and after six years, several fertility parameters showed a higher value in the SRC soil than in the agrosystem: soil moisture, organic matter, total N, exchangeable Ca, Mg and Na and CEC. A decrease of nutrients (N, P, K), organic carbon and CEC after the first SRC crop cycle was reported (Jug et al. 1999b), and a “rebalancing” when organic carbon returned to or increased comparatively with the initial concentration before SRC plantation (Hansen 1993, Mao and Zeng 2010, Pellegrino et al. 2011). The rebalancing of organic carbon varies widely in time and depth and different variables control the soil organic matter and nutrients dynamics: previous land use, time since land-use conversion, planted tree species, soil clay content, “pre-planting” disturbance and climatic conditions (Paul et al. 2002, Sartori et al. 2006, Laganier et al. 2010). From autumn 2010 (T1) to spring 2012 (T4), total N decreased under the SRC field, exchangeable K remained at the same level as in the agrosystem soil and available phosphorus remained stable at a lower level in the SRC crop than in the agrosystem. It supports that sites with great growth and biocycling have stabilized soil phosphorus concentrations (Ens et al. 2013). Even if total N decrease, available phosphorus and total carbon were lower in the SRC plot than in the agrosystem and exchangeable K similar between both, the fertility index was higher in the SRC soil than in the agrosystem, after two harvests without input of fertilizers in willow crop. It could be due to the higher values of the most weighted indicators in the SRC soil compared as agrosystem (i.e CEC, organic matter concentration and exchangeable Mg).

Different processes can contribute to maintain nutrient availability in short rotation forestry of willow or poplar. The high SRC productivity (Ranney et al. 1991) can be at the origin of an efficient cycling of nutrients. Grassland afforestation increases considerably primary production (Norris et al. 2001) and the time needed to return at a steady state after disturbance declined exponentially with an increase in primary productivity (Moore et al. 1993). It is proportional to litter quantity which fall to the soil (Guo et al. 2006) and 60 to 80% of exported nutrients can return to the soil through litter fall (Berthelot et al. 2000). Root mass can be similar or higher than wood biomass and 30 to 60% of roots were fine roots (Rytter and Hansson 1996, Zan et al. 2001). Fast turnover of fine roots is the fundamental parameter of nutrient cycling under willow (Nadelhoffer et al. 1985, Rytter 2001) and the coppicing induces transient pulses of organic carbon in soil related to fine roots turnover (Zan et al. 2001). The high evapotranspiration in SRC crops decrease nutrient loss by leaching (Persson and Lindroth 1994, Fischer et al. 2010). In addition a large leaf surface can filter more particles which will return to the soil by rain (Augusto et al. 2002, Bélanger et al. 2004). Trees physiology and high primary productivity explain the potential efficient nutrient cycle in SRC crops. However, a new-steady state of soil after a land use change involves a rebalancing of biota communities and of their activities (Naeem and Li 1997, Griffiths et al. 2000, Griffiths et al. 2001).

IV.2. Use of bioindicators to monitor soil biological functioning over two years under SRC

The higher biological community index in the SRC plot than in the agrosystem could be due to the omission of pesticide use and tillage. The repartition of earthworm ecological groups was near to the grassland and the forest crop in the SRC with a high anecic proportion and a low endogeic proportion, which confirms the results obtained after the first sampling (Stauffer et al. 2014). Soil basal respiration was similar for the SRC and grassland plot. Soil

management practices and land use changes are known to modify earthworm functional group repartition (Sinha et al. 2003, Pérès et al. 2011) and microbial activities (García-Orenes et al. 2010, Bielinska and Mocek-Plociniak 2012). Changes in earthworm proportion particularly the increase of anecic worms can be an important factor for soil functioning and ecological balance, since they affect soil structure (increase macropore density and soil aggregation), improve water movement and retention in soil and nutrient release contributing to soil fertility (Pérès et al. 2011). The confirmed higher soil basal respiration in the SRC plot compared to the agrosystem can also contribute to nutrient cycling. Such increase can be explained by the increase of organic matter concentration (willow roots and leaf litter input) and soil moisture. SRC crop decrease soil density and increase porosity (Kahle et al. 2005). The continuous vegetation cover decrease soil temperature (Mann and Tolbert 2000) and could explain that surface soil moisture (15 cm depth) was similar for the SRC and grassland plots and higher than in the agrosystem soil. Indeed, changes in physicochemical parameters were correlated with changes in biological community ones, such as soil moisture with soil basal respiration, bacterial density, epigeic and anecic percentage, and OM with soil basal respiration, phosphatase, laccase and FDA hydrolysis soil activities, earthworm diversity and anecic percentage. Laccase activity was higher in the SRC plot than in the agrosystem and grassland soils. This suggests that changes of organic matter quantity and quality have modified soil functioning and biological communities. C/N was stable in the grassland and forest plots (organic matter quality input in soil are similar over time) whereas in the agrosystem soil, C/N changes according to the planted crop (figure 4.1). In the SRC plot, the increase of C/N ratio represents a good indicator of organic matter quality change (increase of condensed tannins, long C-chain lipids and phenolic compounds) (Schofield et al. 1998, Boeckler et al. 2011, Jandl et al. 2012). It can explain the increase of fungal abundance (Bossuyt et al. 2001), which is also increased by afforestation (Chen et al. 2008, Carson et al. 2010) and the high laccase

activity. Higher fungal density and laccase activity in this SRC plot than in the agrosystem has already been noted in the same plot before detectable modification in organic matter concentration (Stauffer et al. 2014). It confirms the potential use of bioindicators as early warning device of soil equilibrium modification (Jordan et al. 1995, Cluzeau et al. 2012). The highest fungal abundance and the fungal on bacterial ratio in the SRC plot were anticorrelated with available phosphorus, before the harvest, suggesting the potential implication of mycorrhizal fungi (Püttsepp et al. 2004).

The four land uses showed a similar way over time (figure 4.4); microbial activities and species composition fluctuated with changes in environmental conditions. There was no significant correlation between fungal or bacterial density but some enzymatic activities, cellulase, β glucosidase and phosphatase were correlated and were significantly higher in autumn 2011 (T3). At this time there were all correlated with bacterial compartment which can be strongly involved. These observations reflect a bacterial community dynamic depending on climatic condition, T3 was a sunny autumn (289 vs. 78). Contrary to fungi, bacterial ecology is more associated and controlled by their micro-environments (Cooke and Whipps 1993). Other enzymes cannot be related to fungal or bacterial compartment. Use of bioindicators in addition to chemical parameters allows to classify the SRC plot among three other land uses on biological dynamic functioning. The biological community changes could have two triggers, lifted of agricultural pesticide input and tillage and a transition to a new steady state and soil functioning with element fluxes modified by SRC system (leave litter and rhizodeposition) (Stauffer et al. 2014). The higher biological community index in the SRC plot compared to the agrosystem could represent a compensatory mechanism that contributes to the new nutrient cycle in the SRC soil-plant system and to ecosystem stability (Ernest and Brown 2001).

IV.3. Soil Quality Index (SQI) use for SRC management

The management of agricultural systems is mainly focused on crop yield, emphasizing the main involvement of a single ecosystem service at the expense of other ecosystem services (Gordon et al. 2008). Changing the focus of agricultural management was a recommendation of the MEA (Carpenter et al. 2009) to maintain or enhance functional diversity in agricultural landscapes (Elmqvist et al. 2003, Folke et al. 2004, Griffiths and Philpott 2013).

Even if, for the SRC and the agrosystem plots, the fertility and biological community indices were more stable within time than the biological activity index, they were higher for the SRC than for the agrosystem plot. Biological activity index was higher in T3. It could be due to the sensitivity of the soil biological activity indicators to the environmental conditions (Jordan et al. 1995). According to the calculation of these index, the gradient of intensity of agriculture exhibited in the first study is validate over time, the “best” land use from the point of view of selected soil indicators was the forest plot followed by grassland, SRC and then the agrosystem plot. Fertility on the SRC crop was supported by changing of biological community with an increase of fungal on bacterial ratio and of the most saprophytic earthworms (epigeic and anecic worms) and by modifications of the biological activities (laccase and soil basal respiration increase compared as the agrosystem plot) even if the biological activity index was similar for the SRC and the agrosystem plot. The three indices were correlated, particularly the fertility index with the two others, emphasising the role of the biological community and their activities to maintain soil fertility.

Calculated indices allowed us to synthesize the data of individual indicators in order to assess the impact of SRC on three major soil functioning parameters, compared as an agrosystem, a forest and a grassland plots. Examining several indices made it possible to assess different aspects of soil quality separately and distinguish functional parameters (*e.g* enzymatic

activities, nitrification, organic matter mineralization) from pools or stocks (CEC, carbon content), and thus provide a better interpretation (Velasquez et al. 2007, Cécillon et al. 2009). Aggregating indicators involved in soil fertility, soil biological activity or representing the biological community allowed to take into account the main processes or functions implied in ecosystem services rendered by willow production and not only woody biomass production. This tool is not meant to assess the absolute ecosystem value or to quantify ecosystem services, but to compare land uses based on a number of indicators. Parameters that evidenced differences between land uses were put forward. However, SQI have some bias and limits: the correlations between individual parameters which allow to explain soil functioning were not visible in a index compare to a PCA. Its elaboration requires some level of *a priori* criteria (Rossi et al. 2009, Hailu and Chambers 2012). For example, the scoring curves, “more is better” or “less is better” are subjective and illustrate a lack of knowledge on threshold values in soil.

V. Conclusion

Sensitive parameters to the SRC plot exhibited in the previous study on these plots are validated over time, and some further modifications appear: higher soil basal respiration and organic matter concentration in the SRC than in the agrosystem soil. Our work defines three soil quality index and allow to explain soil functioning in SRC context: Six years after plantation, the SRC crop, improved soil fertility index compared with conventional agrosystem and the nutrient cycle seemed efficient. However, available phosphorus and exchangeable K seemed limiting. The willow SRC plot modified the biological communities and their activities compared with the agrosystem, with a biological community index higher over time. Earthworm community changes (increase of epigeic and anecic percentage and increase of total density and diversity), soil basal respiration was improved and a specific

enzyme activity (laccase) was particularly high in the SRC plot even if biological activity index in the SRC plot stayed quite similar to the agrosystem. These soil biological modifications may improve/ resistance of the SRC field in this carbonated soil. So, it could be a major interest to monitor in more detail the biological community changing (*i.e* microbial communities' structure). Although no clear seasonal effect could be distinguished, variations with time of soil parameters and soil quality indices were observed. Whether an equilibrium of SRC ecosystem functioning will be maintained for 15-20 years remains to be verified.

Table S1 : Pearson correlation coefficients between physical, chemical and biological properties

	CMR	SM	Pase	Gase	Case	FDA	Lase	G16S	G18S	F/B	H 18S	orgC	OM	C/N	totC	totN	P	Ca	Mg	Na	K	CEC	wmB	wmD	wmH	epi	ane	end
SBR	0.59	0.83	0.51	0.06	0.10	0.35	0.70	0.27	0.26	0.12	-0.03	0.89	0.89	0.38	0.75	0.90	-0.13	0.84	0.76	0.56	0.36	0.83	0.32	-0.03	0.49	0.22	0.67	-0.61
CMR		0.59	0.17	-0.07	-0.08	0.10	0.43	0.06	0.31	0.20	-0.36	0.20	0.20	-0.24	0.01	0.23	-0.34	0.32	0.28	0.23	-0.18	0.33	0.15	0.13	0.28	0.16	0.49	-0.45
SM			0.16	-0.27	-0.24	0.17	0.91	0.48	0.10	-0.06	-0.01	0.71	0.71	0.01	0.54	0.75	-0.05	0.69	0.64	0.37	0.23	0.68	0.27	-0.02	0.41	0.41	0.48	-0.58
Pase				0.83	0.81	0.65	0.01	0.00	0.29	0.25	0.07	0.51	0.51	0.50	0.31	0.49	-0.26	0.63	0.54	0.54	0.03	0.64	0.11	0.02	0.51	0.23	0.49	-0.49
Gase					0.90	0.57	-0.41	-0.15	0.05	0.08	0.13	0.08	0.08	0.45	-0.01	0.04	-0.14	0.21	0.10	0.29	-0.15	0.22	-0.13	-0.09	0.14	0.04	0.10	-0.09
Case						0.66	-0.33	-0.11	0.25	0.30	0.17	0.19	0.19	0.43	0.05	0.16	-0.24	0.36	0.22	0.37	-0.23	0.37	-0.03	-0.02	0.37	0.20	0.11	-0.19
FDA							0.00	0.09	0.12	0.10	0.19	0.42	0.42	0.42	0.17	0.41	0.07	0.60	0.56	0.71	-0.05	0.60	0.35	0.08	0.60	0.57	0.31	-0.54
Lase								0.54	0.14	-0.03	0.02	0.65	0.65	-0.05	0.52	0.69	-0.22	0.60	0.50	0.23	0.11	0.59	0.20	-0.04	0.30	0.31	0.41	-0.47
G16S									-0.30	-0.46	0.55	0.31	0.31	-0.09	0.33	0.34	0.19	0.28	0.31	0.04	0.14	0.27	0.43	-0.07	0.19	0.23	0.24	-0.31
G18S										0.95	-0.38	0.16	0.16	-0.15	-0.09	0.19	-0.65	0.36	0.25	0.28	-0.37	0.40	-0.08	0.16	0.55	0.28	0.34	-0.41
F/B											-0.43	0.07	0.07	-0.12	-0.15	0.09	-0.61	0.27	0.18	0.19	-0.37	0.30	-0.14	0.13	0.51	0.26	0.23	-0.31
H18S												0.16	0.16	0.17	0.23	0.15	0.27	0.14	0.13	0.00	0.10	0.12	0.43	0.02	0.09	0.02	-0.01	-0.01
orgC													1.00	0.54	0.88	0.99	0.02	0.90	0.83	0.61	0.49	0.89	0.37	-0.02	0.52	0.29	0.57	-0.57
OM														0.54	0.88	0.99	0.02	0.90	0.83	0.61	0.49	0.89	0.37	-0.02	0.52	0.29	0.57	-0.57
C/N															0.68	0.45	0.09	0.33	0.20	0.31	0.47	0.31	-0.02	-0.41	0.05	-0.25	0.14	0.04
totC																0.84	0.16	0.61	0.55	0.28	0.71	0.58	0.22	-0.35	0.20	-0.05	0.32	-0.21
totN																	0.01	0.92	0.86	0.63	0.45	0.91	0.40	0.04	0.55	0.35	0.59	-0.62
P																		-0.13	0.13	0.03	0.65	-0.16	0.36	0.04	-0.18	0.11	-0.18	0.06
Ca																			0.91	0.75	0.16	1.00	0.47	0.23	0.75	0.57	0.65	-0.79
Mg																				0.73	0.36	0.90	0.63	0.31	0.75	0.59	0.73	-0.86
Na																					0.07	0.75	0.41	0.35	0.63	0.51	0.57	-0.70
K																						0.12	0.22	-0.29	-0.07	-0.17	0.18	-0.04
CEC																							0.45	0.23	0.77	0.58	0.64	-0.79
wmB																								0.51	0.54	0.42	0.54	-0.63
wmD																									0.31	0.32	0.32	-0.41
wmH																										0.73	0.59	-0.84
epi																											0.19	-0.70
ane																												-0.84

Values in bold are significant at $p < 0.05$

SBR: Soil basal respiration, CMR : Carbon Mineralisation Rate, SM Soil Moisture, Pase Phosphatase, Gase Glucosidase, Case Cellulase, FDA hydolysis, Lase Laccase, G16S or G18S 16S or 18S ARNr gene copy number/gdry soil, F:B ratio 18S/16S, H'18S fungal shannon index, wmB earthworm biomass, wmD earthworm Density, wmH earthworm diversity, epi, ane, end epigeic, anecic and endogeic proportion.

Chapitre 5. Caractérisation et évolution temporelle des communautés lombriciennes et microbiennes sur 4 parcelles de TTCR comparées à des parcelles enherbées, de forêt et d'agrosystème.

Résumé

Dans les chapitres 3 et 4, nous avons montré que l'implantation d'un TTCR sur le site de Semuy avait modifié significativement les communautés biologiques du sol par rapport à l'agrosystème sur lequel il avait été planté trois années auparavant. Une augmentation de la densité fongique, de l'abondance relative des champignons par rapport aux bactéries (F:B), de la densité et de la diversité des vers de terre, particulièrement des groupes les plus saprophytes (épigés et anéciques) étaient les modifications majeures observées. L'évolution des communautés biologiques des sols suite à l'implantation de TTCR a déjà été étudiée pour quelques taxons (acariens, carabes, mille pattes, vers de terre) (cf. chapitre 1 II.2.4), cependant les informations sur le compartiment microbien (abondance, diversité et structure des communautés) ou sur les groupes écologiques de vers de terre sous des TTCR sont rares ou inexistantes. Par ailleurs les effets de l'âge des parcelles de TTCR ou de leurs antécédents culturels, pouvant moduler les modifications sur les communautés biologiques, ne sont pas renseignés dans la littérature.

L'objectif de ce chapitre était d'étudier ces communautés et d'étendre l'étude à quatre parcelles de TTCR, présentant des caractéristiques physicochimiques voisines mais des âges et des antécédents différents dans l'objectif d'une part de valider les résultats observés sur le site de Semuy et d'identifier les facteurs temporels et/ou historiques pouvant moduler les impacts.

Les parcelles de TTCR sont localisées sur quatre sites, Givry, Semuy, Asfeld et Amagne, situés dans la vallée de l'Aisne autour de Rethel (Ardennes). Comme dans les chapitres précédents, les parcelles de TTCR ont été comparées à celles des bandes enherbées voisines sur chaque site, ainsi qu'une parcelle de forêt et une d'agrosystème conventionnel localisées à

Semuy. Les parcelles ont été suivies sur une période de deux ans (2010 à 2012) avec des prélèvements saisonniers au printemps et en automne. La structure des communautés fongiques et bactériennes, leurs densités et diversités, estimées par l'indice de Shannon, et l'intensité de la colonisation ectomycorhizienne ont été mesurées. Les vers de terre ont été échantillonnés pour deux des prélèvements (automne) et les fréquences et intensités de colonisation par les champignons mycorhiziens à arbuscules ont été estimées la première année du suivi des parcelles.

Une forte abondance fongique et un rapport F:B élevé caractérisent les quatre parcelles de TTCR par rapport aux trois autres usages du sol et viennent confirmer les résultats précédemment obtenus. De plus les parcelles de saules présentent une diversité lombricienne et des proportions de vers de terre épigés et anéciques supérieures à l'agrosystème conventionnel. Les modifications des communautés lombriciennes sont moins importantes quand les taillis sont plantés sur des jachères. Par ailleurs, l'antécédent cultural ne semble pas avoir d'impact sur la structure des communautés microbiennes qui sont relativement similaires entre les TTCR des quatre sites.

Mots clés : TTCR, saule, gestion/usage des sols, communautés microbiennes, groupes écologiques de vers de terre.

I. Introduction

Les quantités très importantes de gaz à effet de serre libérées par les activités humaines et la raréfaction des énergies fossiles conduisent à trouver des formes d'énergie alternatives (Lemus and Lal 2005, Sims et al. 2006). Parmi celles-ci, les cultures non alimentaires, dédiées à la production d'énergie, connaissent aujourd'hui un intérêt croissant grâce à leurs nombreux impacts positifs potentiels (Berndes et al. 2003). En effet, ces cultures sont souvent associées à des fonctions épuratoires (rôle tampon sur la qualité des eaux), à la

stabilisation des sols (réduction de l'érosion), au stockage de carbone ou encore à un rôle de corridor biologique (Zan et al. 2001, Londo et al. 2004, Volk et al. 2006). Ce concept d'agriculture multifonctionnelle, dépassant la simple fonction de production végétale, est une des recommandations majeures du « *Millenium Ecosystem Assessment* » (Carpenter et al. 2009). Ce nouveau paradigme entraîne d'importants changements d'usage du sol et la conversion vers des modes de gestions plus intégrées (Scherr and McNeely 2008). Les changements d'usages des sols sont souvent considérés comme une des principales causes de perte de biodiversité (Sala et al. 2005). Paradoxalement, les résultats de nombreuses études synthétisées par Dauber et al. (2010) mettent en avant les impacts positifs globaux des cultures dites énergétiques sur la biodiversité. Cependant, la durée de plantation, avant d'observer un effet bénéfique ou négatif, est très variable en fonction des espèces végétales implantées qui sont influencées par différents paramètres (écosystèmes environnants, tailles et formes des plantations, présences de zones refuges après les récoltes etc) (Schulz et al. 2009). Par exemple dans des plantations de *Miscanthus*, l'effet bénéfique sur les oiseaux ne s'observe qu'au cours des 5 premières années, puis décline quand la culture devient trop dense (Bellamy et al. 2009).

Les effets à court terme des cultures énergétiques diffèrent donc des effets à long terme (Donnelly et al. 2011). Ces variations temporelles peuvent-elles s'observer sur la biodiversité du sol ? En effet, la préparation des sites (labour, application d'herbicides), pour leur conversion en TTCR, augmente le taux de minéralisation et conduit à des pertes de carbone organique et d'azote (Grigal and Berguson 1998, Jug et al., 1999). Cependant, après stabilisation, les TTCR sur sols arables semblent favoriser le stockage du carbone (Mao and Zeng 2010, Sartori et al. 2006). Ces changements dans les cycles des éléments, notamment dans l'hétérogénéité des sources de carbone (saules, strates herbacées) sont susceptibles de modifier l'écologie (chaînes trophiques) et la biodiversité du sol des parcelles (Hooper et al.

2000, Hladyz et al. 2009). Les impacts relatifs dépendent largement des conditions initiales d'implantation. Ainsi, les effets des TTCR sur la biodiversité à court et/ou long terme peuvent être différents si les cultures de biomasse sont implantées sur cultures arables ou sur jachères (van Eekeren et al. 2008). Ils semblent donc différer en fonction de l'antécédent et de l'itinéraire cultural ainsi que de l'âge de la plantation.

Très peu d'études concernent les communautés biologiques du sol des TTCR. L'arrêt du labour, la dynamique racinaire, les faibles apports de pesticides sont évoqués pour expliquer l'augmentation de la densité lombricienne sous les saules (Lagerlöf et al. 2011), le développement de la biomasse microbienne totale (Makeschin 1994) ou encore les effets bénéfiques sur la diversité des acariens (Minor et al. 2004). A notre connaissance, aucune étude n'a été menée sur l'impact des TTCR sur la biodiversité du sol quand ils sont implantés sur jachère. Or les prairies et jachères sont caractérisées par une forte diversité et abondance de vers de terre (Cluzeau et al. 2012). Par ailleurs, les paramètres liés aux communautés microbiennes (diversité, structure, densité) ne sont pas abordés dans les revues sur la biodiversité des cultures énergétiques (Börjesson 1999, Firbank 2008) La plupart des travaux sont focalisés sur les oiseaux ou les mammifères ; très peu prennent en compte la faune du sol (Dauber et al. 2010).

Dans les chapitres précédents, l'impact des TTCR sur les paramètres physico-chimiques et biologiques d'un sol en comparaison avec d'autres usages (agrosystème, forêt, bandes enherbées) a été étudié sur un dispositif de parcelles in situ à Semuy (chapitre 3 et 4). L'objectif du chapitre 5 est de caractériser les communautés microbiennes et lombriciennes sur les parcelles de TTCR de quatre sites présentant des caractéristiques physicochimiques voisines mais différant par l'âge de la plantation et l'antécédent cultural et de mesurer leur évolution temporelle sur une période de deux ans. Comme dans les chapitres précédents, les

parcelles de TTCR ont été comparées à celles des bandes enherbées (BE) voisines, d'un agrosystème (A) et d'une forêt alluviale (F).

II. Matériel et méthodes

II.1. Description des sites

Les parcelles étudiées sont situées dans la vallée de l'Aisne, dans les Ardennes. Le contexte pédoclimatique est décrit dans le chapitre 2 (§ I.2.1). Les parcelles de TTCR de saules étudiées sont localisées sur quatre sites : Semuy et Givry, où elles ont été plantées en 2006 sur des cultures de maïs et Asfeld et Amagne, où la plantation a été réalisée en 2008 sur des jachères (chapitre 2 § I.2.2). Le rendement en plaquettes obtenu avec les parcelles de Givry et Semuy a été de 24 et 22 tMS/ha/an en novembre 2008. Les rendements de ces deux parcelles ont diminué à la deuxième récolte (novembre 2011): 19.9 et 19.7 t/MS/ha/an. Les parcelles d'Asfeld et Amagne ont été récoltées pour la première fois à cette date et ont produit respectivement 36.3 et 9.1 tMS/ha/an. Les caractéristiques physico-chimiques des sols des parcelles sont relativement similaires (tableau 5.1).

Tableau 5.1 : Caractéristiques des sols de surface (0-15cm) des parcelles de TTCR, des bandes enherbées (BE), de la forêt (F) et de l'agrosystème (A).

	Semuy	BE Semuy	F	A	Givry	BE Givry	Asfeld	BE Asfeld	Amagne	BE Amagne
Argiles (%)	49	50	56	32	41	39	59	58	71	71
Limons (%)	42	39	36	56	42	44	36	40	27	27
Sables (%)	9	11	9	12	17	16	4	2	1	1
pH (H2O)	7.6	7.3	7.5	7.7	7.6	7.4	7.3	7.3	6.6	7.4
pH (KCl)	6.8	6.7	7.0	7.6	7.0	6.8	6.8	6.7	5.7	6.8
CaCO3 (g.kg⁻¹)	119	138	69	261	209	110	110	106	1	15

La texture est limono-argileuse pour l'agrosystème et argilo-limoneuse pour toutes les autres parcelles. La somme des fractions fines (Argiles + Limons) est comprise entre 83 à 98 %. La parcelle de TTCR et la bande enherbée d'Amagne ont des teneurs très faibles en carbonate.

Le pH de cette parcelle de TTCR d'Amagne (6.6) est plus faible que celui des autres sites, situé entre 7.3 et 7.7 (tableau 5.1). Dans ce chapitre, les quatre parcelles de saules sont comparées à leurs bandes enherbées voisines mais également à l'agrosystème et à la forêt alluviale, situés sur le site de Semuy. Les trois sites Semuy, Givry et Asfeld, l'agrosystème et la forêt sont localisés sur des sols tout à fait comparables et dans la même zone géographique et climatique de la vallée de l'Aisne. Par ailleurs, l'influence des particularités pédologiques du site d'Amagne comparativement au trois autres sites, sera discutée dans ce chapitre.

II.2. Echantillonnage

L'échantillonnage du sol et des racines a été réalisé de manière saisonnière (chapitre 2 § I.3). Cinq temps de prélèvements ont été réalisés : printemps 2010 (T0), automne 2010 (T1), printemps 2011 (T2), automne 2011 (T3) et printemps 2012 (T4). La forêt et l'agrosystème n'ont pas été échantillonnés à T0.

II.3. Analyses

II.3.1. Paramètres mesurés

La strate herbacée présente sur les différentes parcelles de TTCR a été observée lors de chaque échantillonnage. La hauteur moyenne des strates herbacées des parcelles de TTCR de Semuy, Givry et Asfeld et leurs biomasses aériennes ont été estimées à T3. Les paramètres mesurés aux différents temps sont présentés dans le tableau 5.2. L'abondance des communautés microbiennes (bactérienne et fongique) a été mesurée par PCR en temps réel (chapitre 2 § II.3.1.d) et la structure de ces communautés par PCR-TTGE (chapitre 2 § II.3.1.b, II.3.1.c). Un indice de diversité de Shannon a été calculé à partir des données de TTGE des communautés fongiques (chapitre 2 § II.3.1.c).

Pour les champignons mycorhiziens à arbuscules, le nombre de spores dans le sol, et la colonisation mycorhizienne des racines ont été mesurés. Les protocoles d'extraction de spores

et de mesure des fréquences et d'intensités de colonisation par les champignons mycorhiziens à arbuscules (MA) sont décrits dans le chapitre 2 (§ II.3.3). La structure des communautés de champignons mycorhiziens à arbuscules a été obtenue par PCR-TTGE à partir d'ADN extrait de racines. Pour les parcelles de TTCR et la parcelle de forêt alluviale, ce sont des racines de saules dont l'ADN a été extrait (chapitre 2 § II.3.3.a). Sur les bandes enherbées, ce sont les racines de diverses graminées qui ont été échantillonnées (fétuque, molinie etc.). Enfin, les racines prélevées sur l'agrosystème et utilisées pour l'extraction d'ADN étaient des racines de blé. A partir des gels de TTGE, 27 bandes ont été prélevées, purifiées et séquencées pour définir la nature des communautés de champignons endomycorhiziens (chapitre 2 § II.3.3).

Tableau 5.2 : Ensemble des paramètres mesurés sur les communautés microbiennes et lombriciennes aux différents temps de prélèvements sur l'ensemble des parcelles. (MA: champignons mycorhiziens à arbuscules, ECM: champignons ectomycorhiziens)

	T0	T1	T2	T3	T4
Densité fongique totale	X	X	X	X	X
Densité bactérienne totale	X	X	X	X	X
Structure des communautés fongiques	X	X	X	X	X
Indice de Shannon des communautés fongiques	X	X	X	X	X
Structure des communautés bactériennes	X	X			
Structure des communautés de champignons MA	X	X	X		
Nombre de spores dans 20 g de sol	X				
Fréquence et intensité de colonisation MA	X				
Estimation visuelle de la colonisation ECM	X	X	X	*	X
Communautés lombriciennes		X		X	
Hauteur moyenne et biomasse aérienne des strates herbacées des parcelles de TTCR				X	

* en juin 2011, l'estimation a été complétée par une identification des apex observés à la loupe binoculaire

Pour les champignons ectomycorhiziens, les racines de saules des parcelles de TTCR d'Asfeld, Semuy et Givry, ont été lavées et observées à la loupe binoculaire : un pourcentage approximatif de racines ectomycorhizées a été estimé. Une dizaine d'apex ectomycorhizés des racines prélevées en juin 2011, regroupant les morphotypes différents observables à la loupe binoculaire a été prélevée. Ils ont été écrasés au piston et mis en suspension dans de l'eau ultrapure stérile. Le mélange a été utilisé ensuite pour amplifier l'ADN des apex mycorhizés.

Les produits PCR ont ensuite été séquencés (après purification et dilution). Les séquences partielles d'ITS ont ensuite été comparées aux bases de données GenBank grâce à l'application BlastN (Chapitre 2 § II.3.2).

Enfin, l'AITC, principe actif de la moutarde, a été utilisé pour extraire les vers de terre du sol: les détails de la méthode sont donnés au dans le chapitre 2 (§ II.3.4). Les vers de terre n'ont pas été prélevés sur le site d'Amagne à T3 (automne 2011). Les activités enzymatiques n'ont pas été mesurées non plus à ce temps de prélèvement sur Amagne (cf. Annexe 4). Suite au printemps 2011 très sec, les saules de la parcelle de TTCR d'Amagne semblaient morts, c'est pourquoi les analyses sur tous les paramètres biologiques n'ont pas été faites. Une bonne reprise des boutures au printemps 2012 a cependant conduit à des mesures complètes au dernier prélèvement sur le site d'Amagne.

II.3.2. Statistiques

Quatre types d'analyses de variance (ANOVA) à deux facteurs ont été réalisés dans ce chapitre. Des ANOVA ont été réalisées pour comparer une variable dépendante sur les différentes parcelles (G16S, H'18S etc...) au cours du temps, les deux facteurs sont alors : parcelles, temps (ANOVA parcelles). Le deuxième type d'ANOVA a comparé également une variable dépendante au cours du temps mais cette fois entre les TTCR et les BE. Les deux facteurs sont nommés dans ce cas : usages, temps (ANOVA usages). Un troisième type d'ANOVA a comparé les sites entre eux : Semuy, Givry, Asfeld et Amagne (ANOVA sites). Dans ces deux derniers cas, l'agrosystème et la parcelle de forêt n'ont pas été pris en compte. L'ensemble des tests et des conditions est précisé dans le chapitre 2 au paragraphe III. Le dispositif de parcelles de TTCR disponibles n'a pas permis d'isoler l'effet de l'âge des parcelles de celui des antécédents culturels. Les deux parcelles de TTCR situées à Givry et à Semuy et plantées sur des cultures de maïs sont plus anciennes (plantation en mars 2006) que les parcelles de TTCR d'Amagne et d'Asfeld, plantées sur des jachères en mars 2008.

Cependant, un quatrième type d'ANOVA a été effectué regroupant les TTCR de Givry et Semuy et les TTCR d'Asfeld et d'Amagne permettant d'isoler conjointement les effets du précédent cultural et de l'âge des taillis (ANOVA antécédent). Les vers de terre du site d'Amagne n'ont été échantillonnés qu'en automne 2010, la variance des paramètres lombriciens en fonction des usages du sol concernant ce site a donc été testé par une ANOVA à un facteur suivie du test post hoc de Newman Keuls.

Deux types de matrices sont utilisés dans l'analyse des structures des communautés (cf. chapitre 2 § III). Pour les communautés bactériennes et fongiques totales, des ACP ont été réalisées à partir des matrices issues de l'analyse des gels de TTGE obtenus avec les ADN_r bactériens et fongiques (n=24) et les variables correspondent aux nombres de bandes sur les profils de gels. Les observations correspondent alors à l'intensité relative des bandes. Concernant les communautés endomycorhiziennes, les ADN amplifiés utilisés sont issus d'une PCR nichée (chapitre 2, § II.3.1.b). Dans ces conditions, la variation d'intensité des bandes observées dans le gel n'est pas directement proportionnelle à l'abondance des différents ribotypes présents dans l'échantillon de départ. Par conséquent, la matrice issue de l'analyse des gels est binaire et basée sur la présence et l'absence des bandes. Des analyses de positionnement multidimensionnel (MDS) ont donc été appliquées pour visualiser la structure des communautés de champignons mycorhiziens à arbuscules (MA) (Heinemeyer et al. 2004). Des analyses factorielles discriminantes (AFD) et les distances de Fisher qui en découlent, sont utilisées pour tester la significativité des groupes observés sur les ACP illustrant les communautés bactériennes, fongiques et lombriciennes (chapitre 2 § III).

III. Résultats

III.1. Description des strates herbacées des parcelles de saules

Les strates herbacées observées de manière non exhaustive au cours des différents prélèvements étaient homogènes et relativement similaires entre Semuy et Givry, tant en hauteur moyenne qu'en diversité : nombreuses prêles, menthe aquatique, iris d'eau, bryophytes, carex, trèfle, luzerne etc... avec le pissenlit dominant après les récoltes. A Asfeld, la strate herbacée était très éparse jusqu'au printemps 2011 où son hétérogénéité peut être soulignée (bouquet d'orties et hauts chardons isolés, liserons et carottes sauvages en bordure de la parcelle). La cardamine des près était très abondante sur cette parcelle au printemps suivant la coupe (figure 5.1).



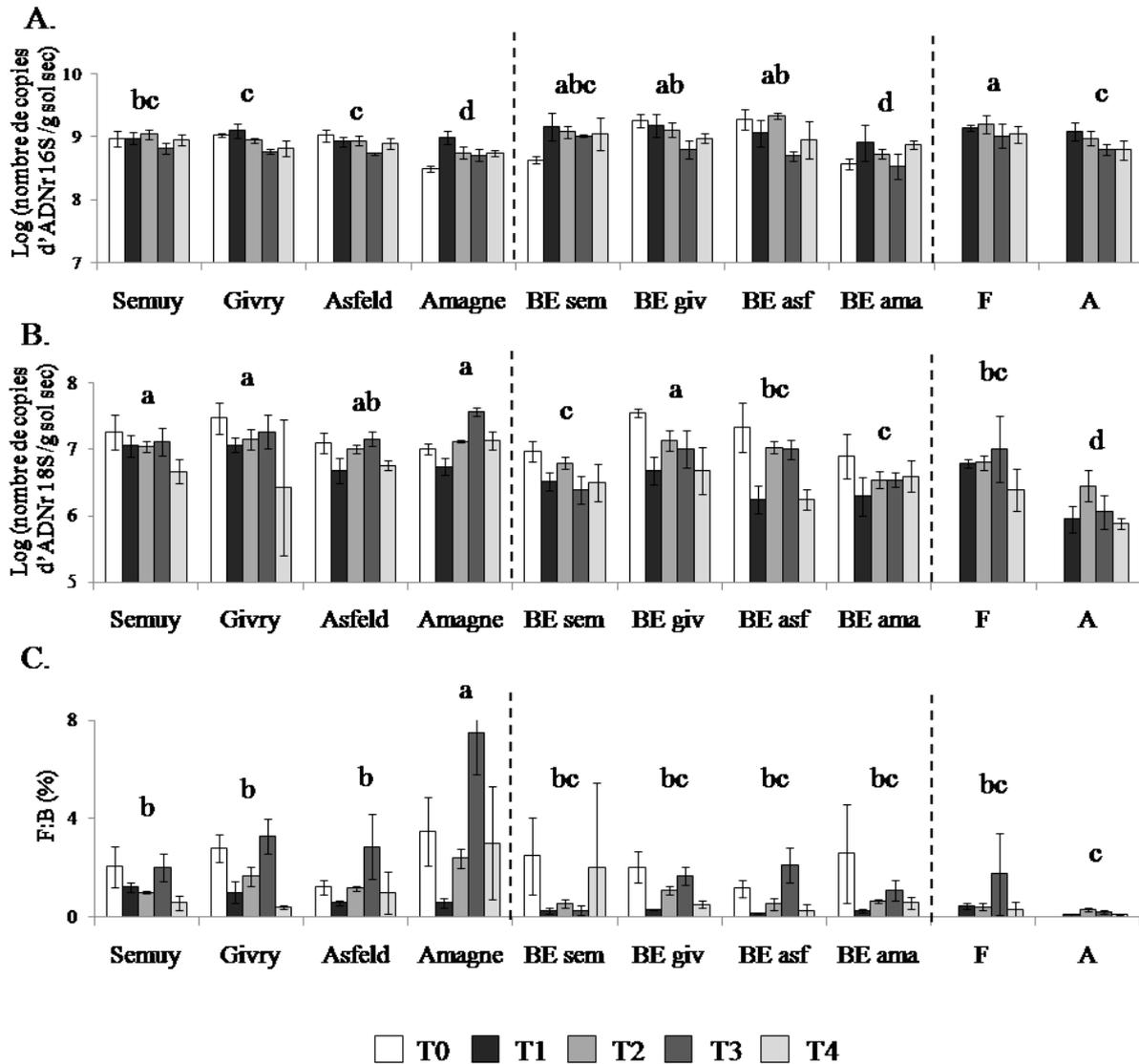
Figure 5.1 : Photos illustrant les strates herbacées des parcelles de TTCR. 1-Pissenlits tapissant le sol de la parcelle de Givry en avril 2009, 2-Orties sur un inter-rang de la parcelle d'Amagne en mai 2010 ; 3-Prêles sous les saules à Semuy en mai 2010 également ; 4- Liserons et carottes sauvages autour d'un brin de saule à la lisière du TTCR d'Asfeld en août 2012 ; et 5-Cardamine des près à Asfeld au printemps 2011.

A Amagne, au contraire, la strate herbacée était déjà bien développée à partir du printemps 2009 et pouvait s'apparenter à une végétation prairiale avec une association de nombreuses graminées et de légumineuses. Les biomasses herbacées et les hauteurs moyennes n'ont pas été mesurées sur Amagne. Pour les trois autres parcelles les biomasses étaient statistiquement différentes (cf. chapitre 8) : $98.1 \pm 6.9 \text{ g/m}^2$ sous les saules à Asfeld, 245.0 ± 52.3 à Givry et 357.8 ± 37.7 à Semuy. Les hauteurs moyennes de la strate herbacée étaient respectivement sur ces trois parcelles de 25, 50 et 60 cm.

III.2. Communautés bactériennes et fongiques totales

III.2.1. Densité, structure des communautés et diversité bactérienne.

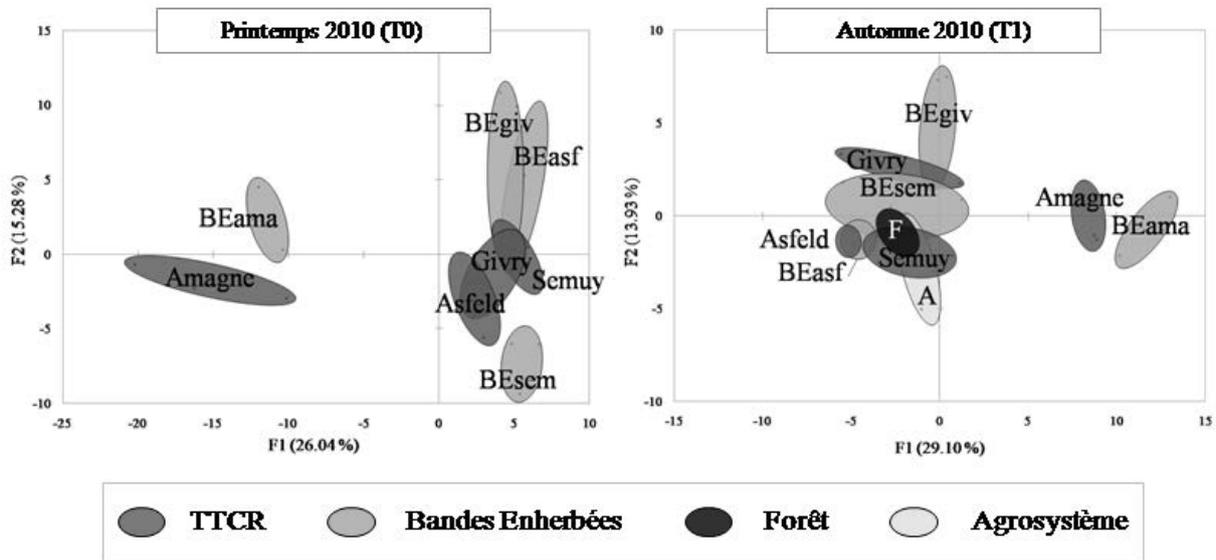
L'ANOVA parcelle/temps sur l'ensemble des données indique que la densité bactérienne était plus faible dans les parcelles de TTCR que celles de BE sur les sites d'Asfeld et Givry (figure 5.2). L'ANOVA usage/temps confirme ce résultat sur la comparaison TTCR-BE. Les quatre parcelles de saule présentaient des densités bactériennes inférieures à celles échantillonnées dans la parcelle de forêt. Les valeurs étaient en revanche équivalentes entre les TTCR et l'agrosystème sauf sur le site d'Amagne, qui présentait des valeurs inférieures pour la parcelle plantée en saules et pour sa BE (ANOVA parcelle/temps et ANOVA site/temps) (figure 5.2 A). Des variations saisonnières de la densité bactérienne sont observées. L'effet est aléatoire, les printemps et les automnes ne sont pas équivalents entre eux. Ces variations pourraient être liées à des conditions climatiques différentes lors des prélèvements saisonniers (cf. chapitre 4). L'ANOVA réalisée sur les quatre parcelles de TTCR uniquement indique que la densité bactérienne était plus forte dans les parcelles plus âgées avec antécédent de maïs (Givry et Semuy) que dans celles plus récentes avec antécédent de jachère (Asfeld et Amagne) (tableau 5.4).



effet usage puis antécédent	P-values	TTCR		TTCR		
		BE		J	M	
G16S	<0.05	B	A	<0.01	B	A
G18S	<0.0001	A	B	—	A	A
F:B	<0.0001	A	B	<0.05	A	B
effet du temps	P-values	0	1	2	3	4
G16S	<0.05	B	A	A	C	B
G18S	<0.001	A	C	B	B	C
F:B	<0.0001	A	B	B	A	B
effet du site	P-values	Semuy	Givry	Asfeld	Amagne	
G16S	<0.0001	A	A	A	B	
G18S	<0.05	B	A	B	B	
F:B	<0.05	B	B	B	A	

Figure 5.2 : Evolution au cours du temps de la densité bactérienne et fongique, estimées par le nombre de copies de gènes d'ADNr 16S (A.) et 18S (B.) et leurs ratios (F:B) (C.) dans les parcelles de TTCR, de bandes enherbées (BE), d'agrosystème (A) et de forêt (F) des différents sites. Les résultats de l'ANOVA parcelles sont représentés sur le graphique avec les lettres minuscules, les résultats des trois autres ANOVA (usages, antécédents et sites) sont présentés dans les tableaux. L'effet du temps est celui de l'ANOVA (parcelles, temps). Les sols sous forêt et agrosystème n'ont pas été échantillonnés à T0, ils ne sont pas inclus dans les ANOVA (usage et sites). Dans les tableaux : A>B>C, J (TTCR sur jachère), M (TTCR sur maïs).

La structure des communautés bactériennes du site d'Amagne (TTCR + Bande enherbée) était également nettement différente de celle des autres parcelles, comme le montre l'ACP sur les données de TTGE (figure 5.3). Cette discrimination s'observe aux deux temps d'analyses, selon l'axe 1. A T0, les communautés bactériennes étaient distinctes entre les TTCR et leurs BE respectives d'après l'analyse factorielle discriminante (AFD). A l'inverse, à T1, la structure des communautés bactériennes n'était pas statistiquement différente entre les TTCR et les BE.



Parallèlement, la structure des communautés bactériennes n'était pas différente entre les sites d'Asfeld, Givry et Semuy à ce temps de prélèvements, d'après les distances de Fisher obtenues par AFD (résultats non présentés). Ces rapprochements dans la structure des communautés entre TTCR et BE à T1 sont également significatifs quand les parcelles de forêt et d'agrosystème sont éliminées de l'analyse à T1 (ACP non présentée). Les indices de Shannon ne montrent aucune différence de diversité bactérienne entre les TTCR et les BE sur les deux temps analysés (T0 et T1) (données non fournies). C'est pourquoi la structure des communautés bactériennes n'a pas été suivie aux autres temps d'analyses.

III.2.2. Densité, structure et diversité des communautés fongiques totales.

Les résultats de l'ANOVA parcelles indiquent que la densité fongique était équivalente entre les quatre parcelles de TTCR et significativement supérieure à celle de la parcelle d'agrosystème (figure 5.2B). Sur les TTCR d'Amagne et Semuy les densités de champignons étaient supérieures à celles des BE correspondantes et également de la forêt. L'ANOVA usage confirme l'augmentation nettement significative de la densité fongique dans les TTCR par rapport aux BE. Le site de Givry avait une densité fongique supérieure à celle mesurée sur les trois autres sites selon l'ANOVA sites. Comme observé sur les densités bactériennes, les saisons ont eu une influence sur les densités fongiques mesurées. La densité fongique diminue au cours du temps particulièrement entre T0 et T4. En revanche, la densité fongique n'est pas affectée par les précédents culturaux des taillis (ANOVA antécédent, figure 5.2).

L'analyse par ACP de la structure des communautés fongiques montre une forte discrimination entre les TTCR et leurs BE selon l'axe 1 du printemps 2010 au printemps 2011 (T0 à T2) et également au printemps 2012 (figure 5.4). A T3, des différences étaient également observées, selon l'axe 1 pour Semuy et selon l'axe 2 pour Amagne et Givry alors que la parcelle d'Asfeld est proche de sa bande enherbée à cette saison. Un rapprochement progressif peut être souligné entre les parcelles de TTCR et la parcelle de forêt. A l'inverse, les parcelles de TTCR s'éloignent de la parcelle d'agrosystème, qui reste proche de la bande enherbée de Semuy de T1 à T3. Ces résultats sont confirmés par les distances de Fisher issus des AFD (données non fournies), montrant également une distance plus faible entre les parcelles de saules et leurs bandes enherbées à T4 par rapport aux autres temps. Cette évolution de distance n'est pas visible avec les échelles de l'ACP.

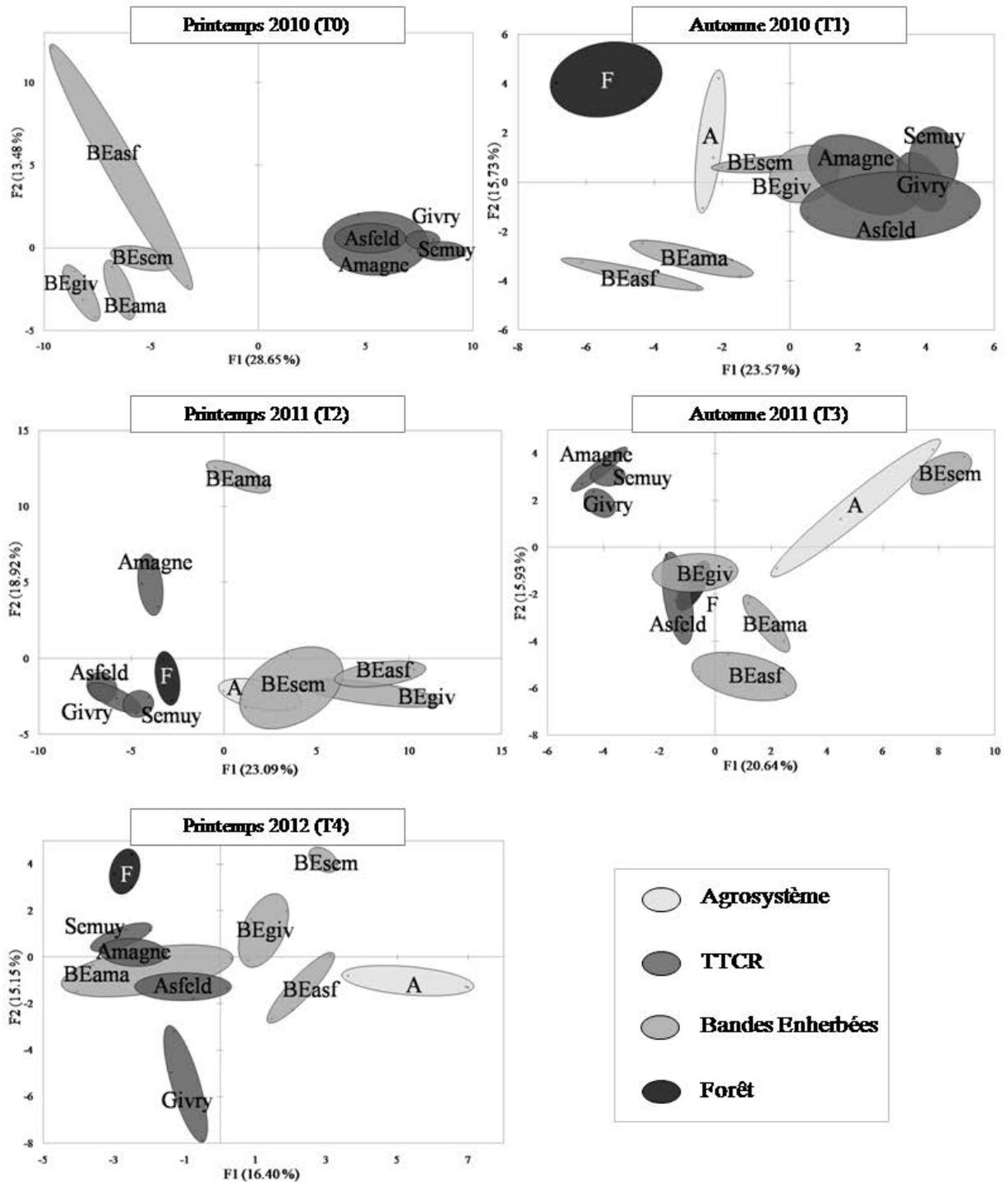


Figure 5.4 : Analyse en composantes principales de la structure des communautés fongiques estimée par PCR-TTGE sur les quatre parcelles de TTCR, les quatre bandes enherbées et sur la forêt et l'agrosystème). (T0 : n=24 et 24 bandes; T1 à T4 : n=30 avec respectivement 15, 24, 19 et 18 bandes).

Les parcelles de forêt et d'agrosystème n'ont pas été échantillonnées à T0 (cf. chapitre 2). Les ACP de T1 à T4 ont été réalisées sans inclure les résultats provenant des échantillons des parcelles de forêt et d'agrosystème, afin de s'assurer de la pertinence des comparaisons entre T0 et les autres temps. Les positionnements et les distances entre les quatre TTCR et les

quatre BE n'étaient alors pas significativement modifiés (données non présentées).

L'évolution de l'indice de diversité fongique, estimé à partir des profils de TTGE (H'18S), était équivalente entre les quatre TTCR et l'agrosystème (figure 5.5, ANOVA parcelles).

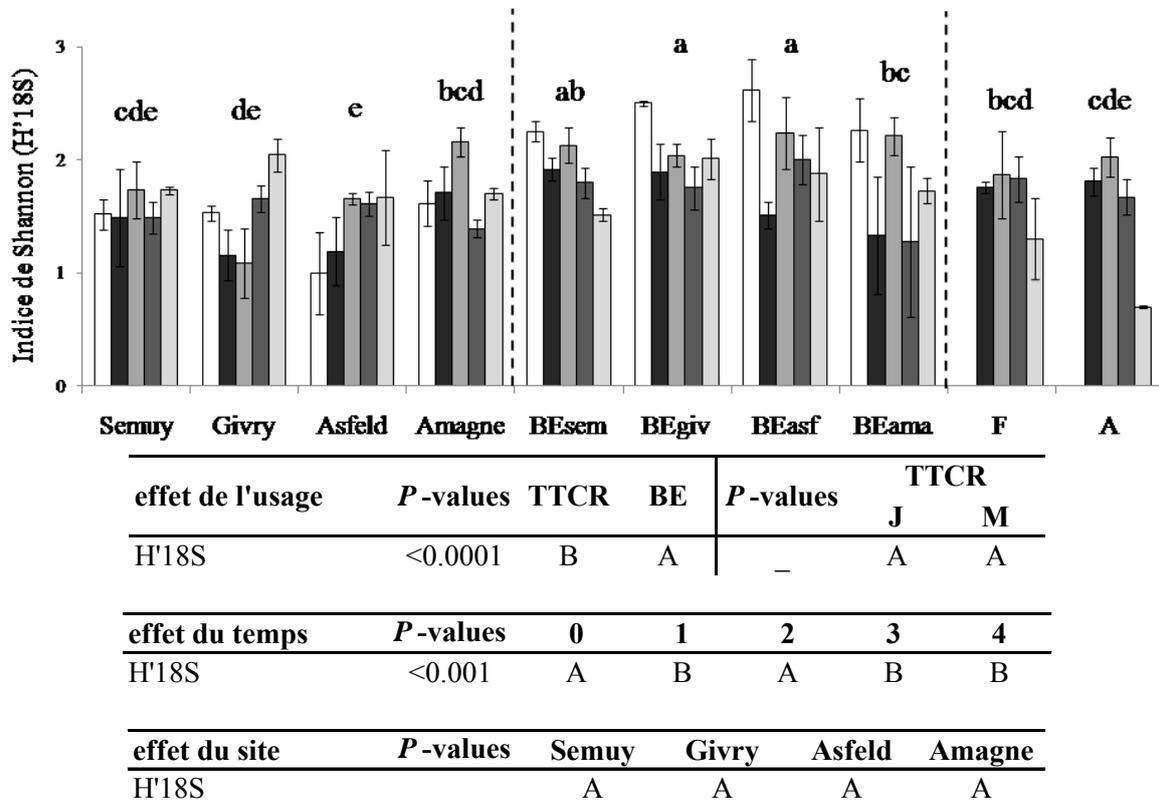


Figure 5.5 : Evolution au cours du temps de la diversité fongique estimée par l'indice de Shannon dans les parcelles de TTCR, les bandes enherbées (BE), d'agrosystème (A) et de forêt (F) des différents sites. Les résultats de l'ANOVA parcelles sont représentés sur le graphique avec les lettres minuscules ($p < 0.05$), l'effet du temps issu de la même ANOVA est présenté dans le premier tableau. Les résultats des trois autres ANOVA (usages, antécédent et sites) sont présentés dans les tableaux suivants. Les sols sous forêt et agrosystème n'ont pas été échantillonnés au T0, ils ne sont pas inclus dans les ANOVAS (usage et sites). Dans les tableaux : A>B, J (TTCR sur jachères), M (TTCR sur maïs).

Les plus fortes diversités fongiques ont été observées sur les BE, sur le site d'Amagne, où les indices de Shannon étaient égaux entre le TTCR et la BE. L'ANOVA usage indique que les indices de Shannon étaient plus élevés dans les BE que dans les parcelles de saules. D'autre part, les différents sites n'étaient pas discriminés par leurs diversités fongiques (ANOVA site, figure 5.5). L'ANOVA parcelles montre une variation significative de la diversité fongique au cours du temps sur l'ensemble des parcelles avec des valeurs plus élevées au printemps T0 et

T2. Aucun effet significatif de l'âge et/ou des antécédents culturaux n'a été observé sur l'évolution des indices de Shannon.

III.2.3. Rapport F:B

Les ANOVA parcelles et usage indiquent que les rapports des densités fongiques et bactériennes étaient plus élevés dans les TTCR que dans les parcelles enherbées. Les rapports étaient comparables entre la parcelle de forêt et les parcelles enherbées et très faibles dans l'agrosystème. Sur l'ensemble des parcelles, les temps de prélèvement T0 et T3, correspondant au printemps 2010 et à l'automne 2011, présentaient les valeurs de rapports F:B les plus élevées. L'ANOVA site discrimine le site d'Amagne qui présente des rapports plus élevés que les trois autres sites. Les deux parcelles plantées sur des jachères présentaient des rapports F:B au cours du temps plus élevés que le couple de parcelles plus âgées plantées sur des cultures de maïs (ANOVA usage, tableau 5.4).

III.3. Identification partielle de champignons ectomycorhiziens

Les estimations visuelles à la loupe binoculaire ont montré une colonisation ectomycorhizienne qui ne dépassait jamais 1% sur les quatre parcelles de saules. Aucune différence d'intensité de colonisation ou de diversité n'a pu être mise en évidence entre les sites. Des exemples de champignons ectomycorhiziens identifiés sur les parcelles sont donnés dans la figure 5.6.

Les pourcentages d'homologie de séquences partielles des régions ITS avec les séquences identifiées dans la base de données GenBank étaient respectivement de 98% pour *Hebeloma sp.*, 96% pour *Hebeloma pallidoluctuosum*, 98% pour *Hymenogaster populetorum*, 95% pour *Hebeloma tomentosum* et 99 % pour *Geopora cervina*.

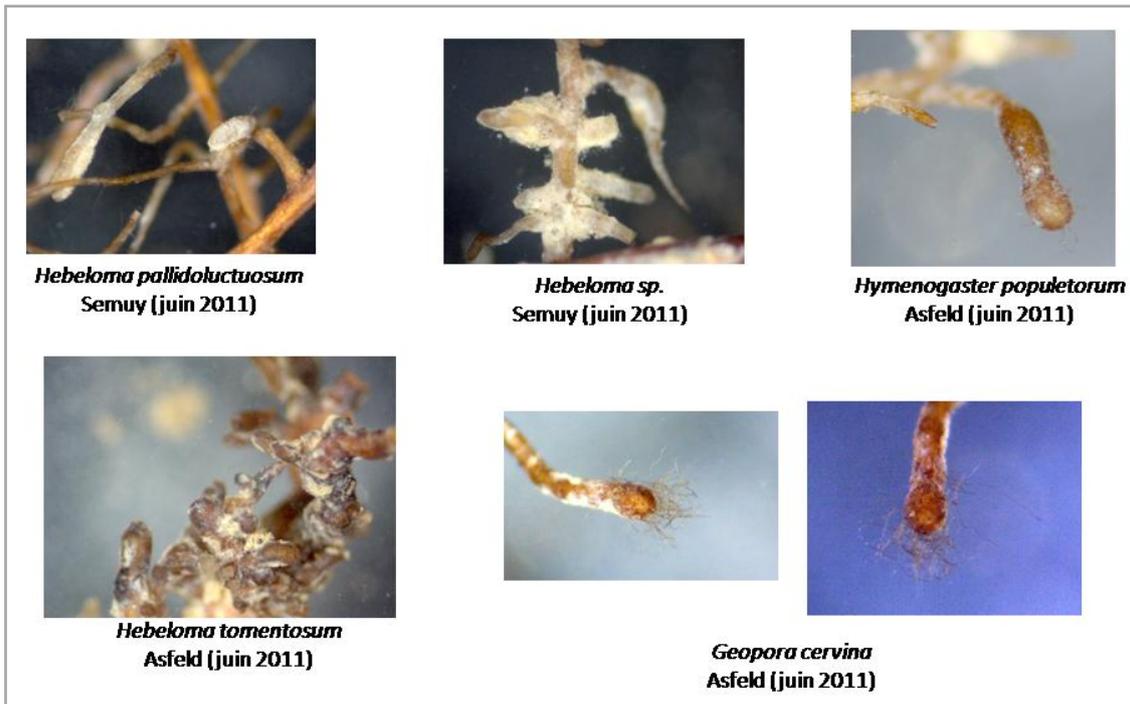


Figure 5.6 : Apex racinaires de saules prélevés sur les parcelles d'Asfeld et Semuy en juin 2011.

III.4. Colonisation par les champignons mycorrhiziens à arbuscules

Plusieurs paramètres liés aux communautés de champignons à arbuscules ont également été mesurés. Le nombre de spores de ces champignons dans le sol était équivalent entre les TTCR et les BE sur les sites d'Asfeld, Givry et Semuy. A Amagne, il était significativement plus important dans la BE (figure 5.7A). Les résultats des ANOVA à un facteur regroupant soit les usages soit les sites montrent une densité de spores de champignons MA plus élevée sur le site d'Amagne comparativement aux trois autres sites. Les fréquences de colonisation endomycorhizienne des racines étaient plus élevées sur les parcelles de Semuy et Givry que sur les deux autres sites. Bien que les valeurs d'intensité de colonisation endomycorhizienne des racines paraissent plus faibles, et très faibles, pour Asfeld et Amagne, que pour Semuy et Givry, les variations importantes sur un même site conduisent à des différences non significatives (figure 5.7B). La structure des communautés de ces champignons MA était différente entre les TTCR et les bandes enherbées (figure 5.7C).

Funneliformis mosseae (syn. *Glomus mosseae*) a été identifié, au moins une fois sur toutes les parcelles. Le résultat du séquençage des autres bandes n'a pas abouti à l'identification des espèces, les séquences présentaient 96 à 100% d'homologie avec divers clones de *Glomus* sp. non cultivés.

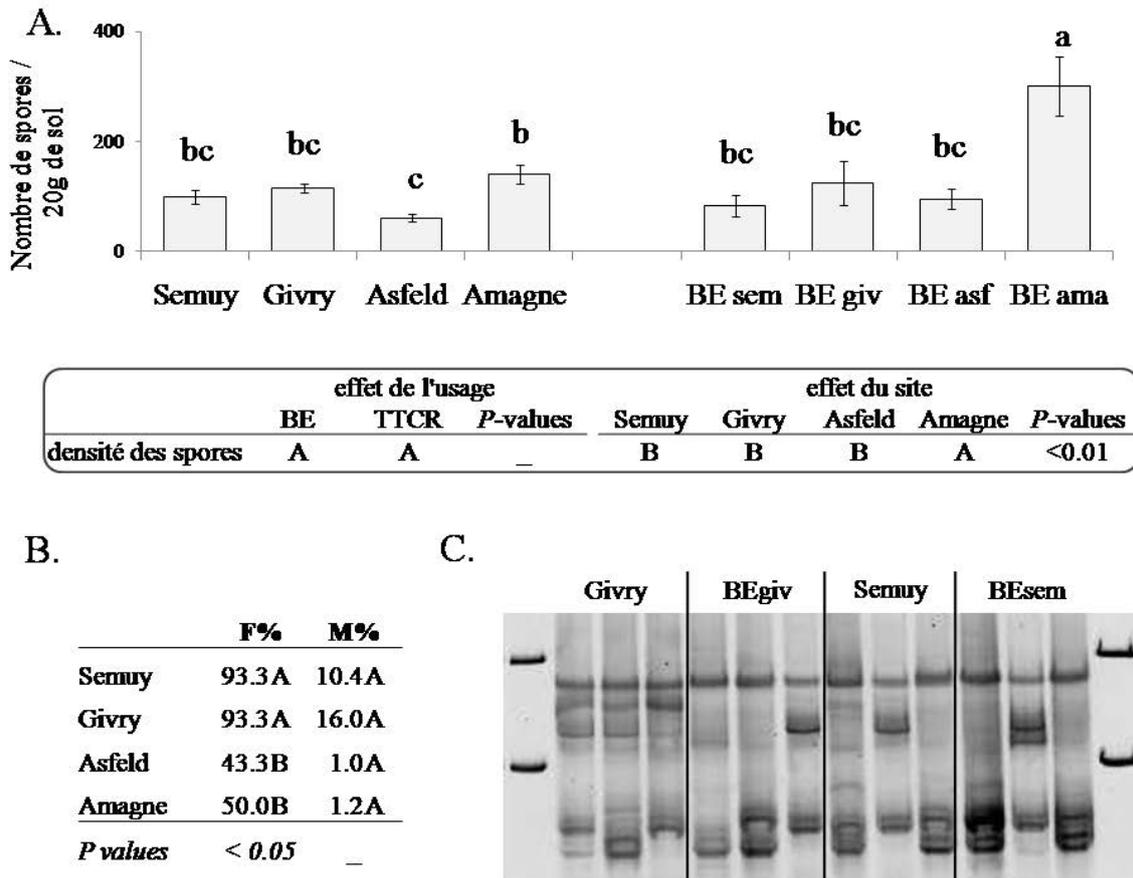


Figure 5.7 : Densité des spores de champignons mycorhiziens à arbuscules (nombre/ 20g de sol) dans la rhizosphère (A.) et résultats des ANOVA à un facteur regroupant les usages (TTCR ou BE) ou les sites. Colonisation mycorhizienne des racines de saules sur les quatre parcelles de TTCR (B.) déterminés en mai 2010 (T0) et exemple de gel TTGE sur les parcelles de Givry et Semuy (C). F% : fréquences de colonisation; M% : intensité de colonisation des racines.

Les analyses multidimensionnelles (MDS) de la structure des communautés de champignons mycorhiziens à arbuscules, estimée par TTGE, discriminent selon le premier axe les parcelles de TTCR de leurs BE voisines (figure 5.8). La parcelle de forêt était assez proche des TTCR.

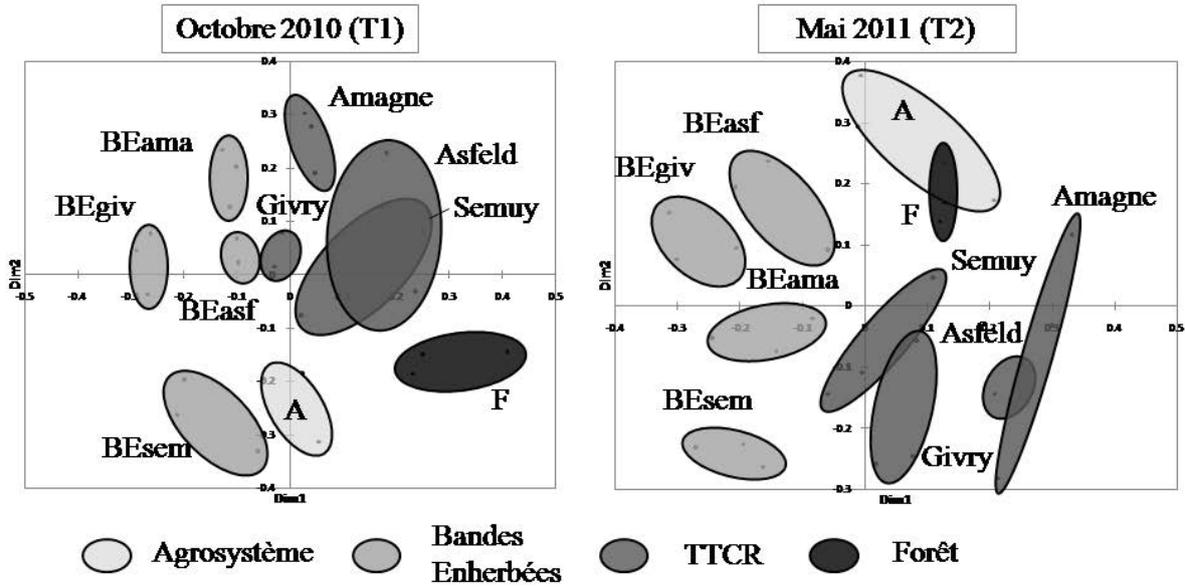


Figure 5.8 : Analyse multidimensionnelle (« MDS ») de la structure des communautés de champignons mycorhiziens à arbuscules des prélèvements T1 et T2. Les modalités étaient les suivantes, 30 observations avec 25 bandes à T1 et 34 à T2.

III.5. Etude des communautés lombriciennes

Les paramètres mesurés sur les communautés lombriciennes sont regroupés dans les diagrammes en radar de la figure 5.9 sous forme de pourcentage par rapport aux valeurs maximales. Les valeurs absolues utilisées pour construire les diagrammes radars et les statistiques sur ces données sont présentées dans le tableau 5.3. D'après les résultats de l'ANOVA parcelles, la biomasse lombricienne sous les parcelles de TTCR de Semuy et Givry était équivalente à celle de l'agrosystème. Le site d'Amagne (BE + TTCR) présentait une biomasse inférieure à l'agrosystème (tableau 5.3c.). La biomasse lombricienne du TTCR à Asfeld était équivalente à celle de sa BE ou celle de F. L'ANOVA usage montre que les biomasses lombriciennes sous les TTCR sont inférieures aux biomasses des BE et sont comprises entre celles mesurées sous forêt et celles mesurées sous l'agrosystème (tableau 5.3b.).

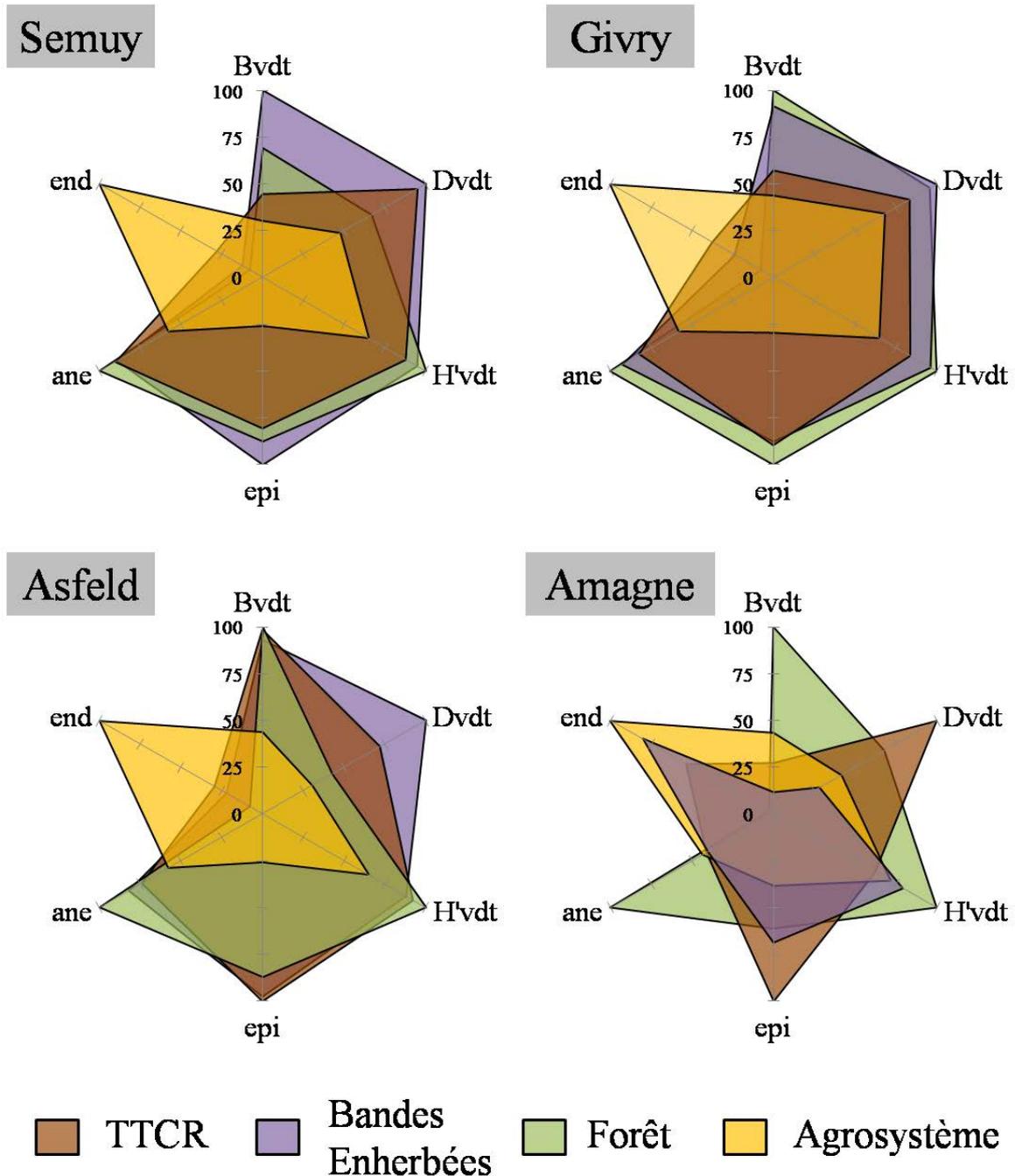


Figure 5.9 : Représentation en graphique radar des données de biomasse (Bvdt), densité (Dvdt), diversité (H'vdt) lombricienne, et proportion de vers épigés (epi), anéciques (ane), et endogés (end) des parcelles des quatre sites (Semuy, Givry, Asfeld, Amagne) en automne. Les valeurs utilisées sont les moyennes des triplicats du T1 (n=12) pour Amagne et les moyennes des T1 et T3 pour les trois autres parcelles (n=24). Les données sont exprimées en pourcentage par rapport aux valeurs maximales.

Les quatre parcelles de TTCR renfermaient chacune une densité plus importante de vers de terre que celle observée dans l'agrosystème. Sur Semuy et Givry, les densités étaient équivalentes entre les TTCR, les BE et F. En revanche à Asfeld, la densité sous TTCR était inférieure à celle de la BE mais équivalente à celle de la forêt.

Sur l'ensemble des prélèvements, les espèces de vers de terre échantillonnées et identifiées sur les sites étudiés étaient les suivantes : *Lumbricus rubellus rubellus*, *Lumbricus castaneus* et *Eisenia andrei* pour les vers épigés, *Aporrectodea longa*, *Aporrectodea nocturna*, *Aporrectodea sp.*, *Aporrectodea giardi*, *Lumbricus festivus* et *Lumbricus terrestris* pour les espèces anéciques et *Allolobophora chlorotica* et *Octolasion cyaneum* pour les vers endogés. Sur les sites de Semuy, Givry et Asfeld l'indice de diversité (H') des vers de terre dans les parcelles de TTCR, BE et F était équivalent et supérieur à celui observé dans la parcelle d'agrosystème. L'ANOVA à un facteur comparant les quatre sites à T1 (tableau 5.3c) indique que la diversité lombricienne était plus faible à Amagne que sur les trois autres sites. Sur ce site, l'indice de diversité lombricienne était équivalent dans les parcelles de TTCR, BE et A. La proportion d'épigés pour les parcelles de TTCR des 4 sites était supérieure à celle de l'agrosystème et similaire à celle des BE respectives et de la forêt (tableau 5.3a, b et c). Les proportions d'anéciques montrent les mêmes tendances, mais la différence n'était pas significative entre la parcelle de TTCR d'Amagne et l'agrosystème. Enfin, la proportion d'endogés était supérieure dans l'agrosystème par rapport à l'ensemble des autres parcelles, excepté sur le site d'Amagne où la proportion d'endogés de la parcelle BE était voisine de celle de l'agrosystème. La biomasse, la densité et la proportion d'épigés étaient significativement plus élevées sur les deux parcelles de TTCR à précédent jachère mises en place en 2008, comparées aux deux parcelles de TTCR plantées sur maïs en 2006 (ANOVA usage, tableau 5.3). Les résultats de l'ANOVA parcelles indiquent un effet significatif du temps pour trois paramètres lombriciens : la densité augmente entre T1 et T3 contrairement aux proportions d'épigés et d'anéciques qui diminuent. Les ACP réalisées sur les paramètres lombriciens mesurés en 2010 et 2011 (biomasse, densité et diversité lombricienne et proportion relative des trois groupes écologiques épigés, anéciques et endogés) permettent de

visualiser l'évolution et le positionnement des parcelles en fonction de leurs communautés lombriciennes (figure 5.10).

Tableau 5.3 : Résultats des trois ANOVA à deux facteurs (parcelles, usages/ et sites) sur les paramètres lombriciens des parcelles des sites de Semuy, Givry et Asfeld (a et b). Les valeurs représentent les moyennes sur les deux automnes T1 et T3 (n=6). Les vers de terre sur les parcelles du site d'Amagne ont été échantillonnés au T1 uniquement. Les résultats présentés sont issus d'une ANOVA à un facteur comparant les deux parcelles du site d'Amagne aux parcelles de forêt et d'agrosystème (n=3) (c). Une deuxième ANOVA à un facteur réalisée sur l'ensemble des données relatives aux communautés lombricienne à T1 et regroupant les parcelles de TTCR et de BE par sites est présentée dans la dernière partie du tableau (n=6) (c.). Bvdt : biomasse, Dvdt : densité, H'vdt : indice de diversité de Shannon, epi : pourcentage de vers épigés, ane : pourcentage de vers anéciques, end : pourcentage de vers endogés (p <0.05*, <0.01**, <0.001***, <0.0001****).

a.	parcelles								
	Semuy	BEsem	F	A	Givry	BEgiv	Asfeld	BEasf	P
Bvdt	46.8 bc	104.5 a	72.2 b	31.8 c	41.4 c	66.3 b	71 b	67.1 b	*
Dvdt	141 bc	148 bc	99 cd	71 d	86 d	103 cd	167 b	232 a	*
H'vdt	1.72 ab	1.86 ab	1.96 a	1.28 c	1.6 b	1.9 ab	1.8 ab	1.7 ab	**
epi	23.7 b	34.3 ab	29.7 ab	9.8 c	26.7 ab	27.8 ab	37.2 a	32.6 ab	**
ane	61.2 ab	59 ab	66.1 a	36.4 c	53.1 ab	59.3 ab	47 b	55.5 ab	*
end	15.1 bc	6.8 cd	4.2 d	53.8 a	20.2 b	12.9 bcd	15.8 bc	11.9 bcd	*

b.	temps			usages					sites			
	1	3	P	TTCR	BE	F	A	P	Semuy	Givry	Asfeld	P
Bvdt	A	A		BC	A	AB	C	*	A	A	A	
Dvdt	B	A	*	AB	A	AB	B	**	B	C	A	*
H'vdt	A	A		B	B	A	C	*	A	A	A	
epi	A	B	****	A	A	A	B	**	B	B	A	*
ane	A	B	**	B	AB	A	C	*	A	A	A	
end	A	A		B	C	C	A	**	A	A	A	

c.	parcelles					sites				
	Ama	BEama	F	A	P	Semuy	Givry	Asfeld	Amagne	P
Bvdt	23.2 c	9.8 d	84.4 a	36.8 b	***	A	A	A	B	*
Dvdt	139 a	39 d	95 b	58 c	***	AB	B	A	B	*
H'vdt	1.1 b	1.5 b	1.8 a	1.3 b	*	A	A	A	B	***
epi	41.9 a	28.8 ab	25.7 ab	16.2 b	*	B	B	A	B	**
ane	30.1 b	29.4 b	72.9 a	31.7 b	**	A	A	B	B	**
end	28.0 b	41.8 ab	1.4 c	52.1 a	*	B	B	B	A	**

A T1, les parcelles de TTCR d'Amagne et d'Asfeld étaient proches mais significativement différentes de leurs bandes enherbées respectives selon les paramètres lombriciens (figure 5.10). Les TTCR de Givry et Semuy étaient situés entre l'agrosystème et leurs bandes enherbées. A T3, les trois TTCR échantillonnés présentaient des communautés lombriciennes proches ou similaires à leurs bandes enherbées et très éloignées des communautés de

l'agrosystème. Les TCCR de Givry et Semuy se sont également rapprochés de la parcelle de forêt entre T1 et T3.

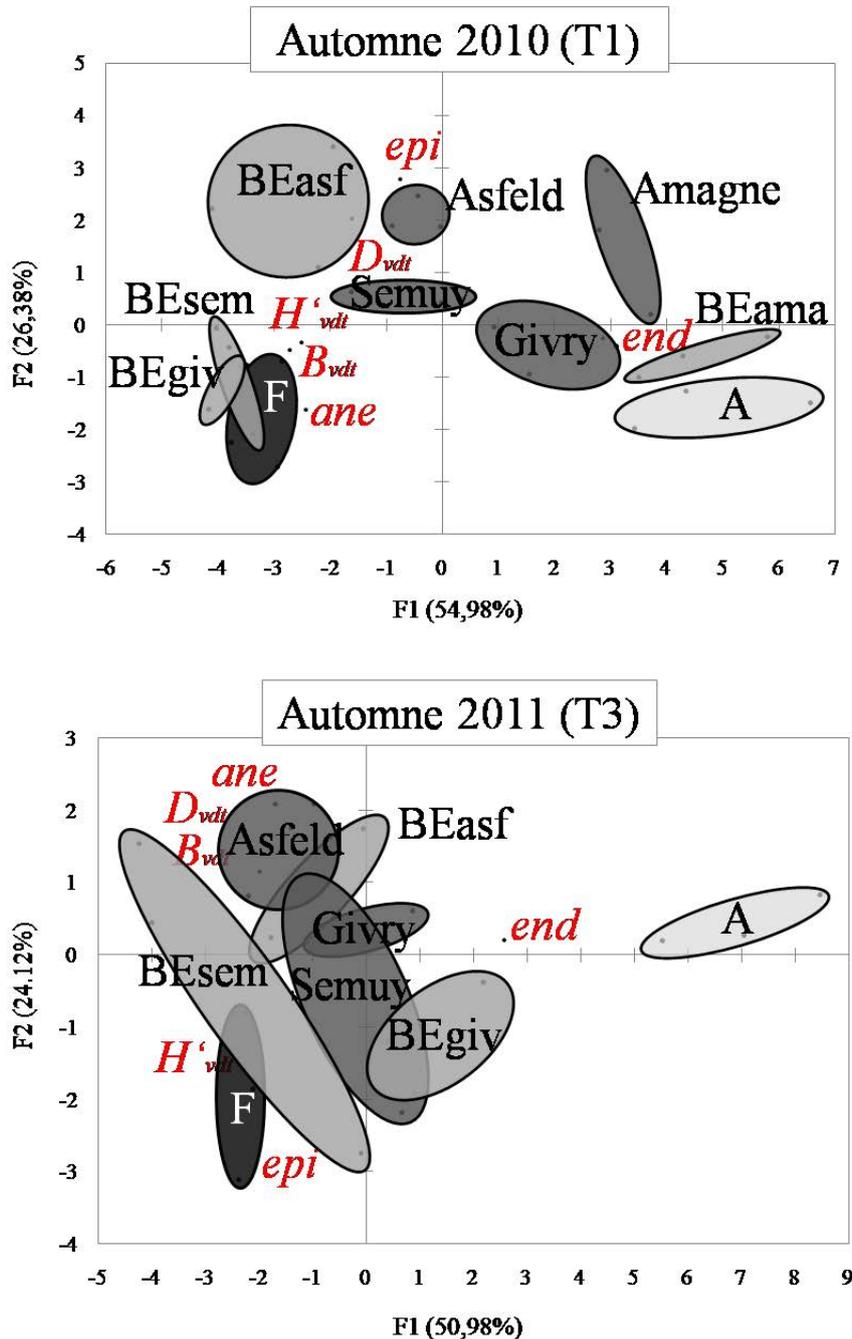


Figure 5.10 : Analyse en Composante Principale des paramètres lombriciens dans les prélèvements d'octobre 2010 et 2011. La parcelle d'Amagne n'a pas été échantillonnée en 2011. Epi, % d'épigés ; ane, % d'anécique ; end, % d'endogés ; Dvdt, densité lombricienne ; Bvdt, biomasse lombricienne ; H'vdt, diversité lombricienne estimée par indice de Shannon.

Les ACP soulignent également la dominance des vers endogés dans l'agrosystème et sur le site d'Amagne. Les autres paramètres (densité, biomasse, diversité et les proportions

d'anéciques et d'épigés) discriminent les BE d'Asfeld, Givry et Semuy et le site forestier (figure 5.9 et 5.10).

IV. Discussion

IV.1. Variation des paramètres mesurés aux différents usages des sols et influence des TTCR sur les communautés biologiques.

Parmi tous les paramètres mesurés, les résultats des analyses de variance mettent en évidence des paramètres très sensibles et bien discriminants selon les quatre usages du sol. La densité fongique et le rapport F:B sont les paramètres qui discriminent le mieux les parcelles de TTCR (tableau 5.4). Ce résultat, obtenu sur quatre sites où sont implantées des parcelles de saules, confirme ce qui a été observé sur le site de Semuy (chapitres 3 et 4). Ces indicateurs sont fréquemment choisis pour évaluer l'impact d'un changement d'usage sur les sols (Schloter et al. 2003, Gomez et al. 2007, Strickland and Rousk 2010). La diversité fongique discrimine également significativement les bandes enherbées des trois autres usages du sol ($p < 0.0001$). Cependant, ce paramètre ne distingue pas les TTCR de la forêt ou de l'agrosystème, puisque dans ces trois usages la diversité fongique, mesurée par l'indice de Shannon, est statistiquement équivalente. La visualisation des structures des communautés microbiennes sur les ACP ou les MDS indique que les communautés fongiques totales ou endomycorhiziennes discriminent relativement bien les quatre usages du sol contrairement aux communautés bactériennes. L'usage apparaît donc déterminant sur les communautés fongiques (structure et densité). Les 4 parcelles sont récoltées en même temps, le reprise du taillis s'effectue donc conjointement sur les quatre sites. Le rapprochement entre les BE et les TTCR à T4 pourrait être interprété par le changement de strate herbacée où les espèces ombrophiles laissent la place à une végétation plus exigeante en luminosité (Baum et al.

2009b). La variation des espèces végétales au cours des cycles croissance-récoltes dans les TTCR pourrait être un facteur de contrôle des communautés fongiques.

La mycorhization par les champignons endo- et ectomycorhiziens n'ayant pas été évaluée dans toutes les parcelles et à tous les temps, il n'a pas été possible d'évaluer la pertinence de ce paramètre pour évaluer les conséquences du changement d'usage en TTCR. Bien que l'intensité de colonisation ectomycorhizienne n'ait pas été quantifiée, son estimation approximative, à la loupe binoculaire, après chaque prélèvement de racine, n'a cependant jamais révélé des taux supérieurs à 1%, alors que la colonisation endomycorhizienne était plus élevée. La colonisation ectomycorhizienne semble très faible comparée aux résultats rapportés dans la littérature entre 20 à 95% (van der Heijden 2001, Hashimoto and Higuchi 2003, Hryniewicz et al. 2012). Selon la littérature, la symbiose MA semble primordiale dans l'établissement des jeunes plants (Hashimoto and Higuchi 2003), tandis que les champignons ectomycorhiziens colonisent les racines plus tardivement et leurs bénéfices s'observent sur du long terme (van der Heijden 2001). Les quatre parcelles de TTCR pourraient être encore dans une phase de colonisation endomycorhizienne majoritaire. La rapidité de colonisation pourrait dépendre des écosystèmes voisins (Sage et al. 2006) et aucun écosystème forestier n'avoisinait les parcelles de TTCR. Quelques espèces de champignons ectomycorhiziens ont cependant été identifiées (figure 5.6). Les espèces des genres *Hymenogaster* et *Hebeloma* sont fréquemment retrouvées dans les parcelles de TTCR (van der Heijden 2001, Püttsepp et al. 2004, Baum et al. 2009a). Certains auteurs ont aussi montré que les saules des TTCR n'ont pas les mêmes fréquences ni les mêmes diversités de colonisation par les ECM que les saules des ripisylves voisines (Toljander et al. 2006, Hryniewicz et al. 2012). Les quatre parcelles de TTCR présentent des structures des communautés fongiques rhizosphériques (basidiomycètes : mycorhiziens et saprophytes) similaires entre elles et différentes de celles de la parcelle de forêt notamment à l'automne 2010 (T1) (figure 5.4). Les racines prélevées

pour l'étude des communautés de champignons MA proviennent aussi d'espèces végétales différentes, ce qui peut aussi contribuer à expliquer les variations dans la structure des communautés de champignons MA.

Les six paramètres liés aux communautés lombriciennes sont relativement sensibles aux usages du sol ($p < 0.05$ à < 0.01 , tableau 5.3). Les TTCR ont des indices de Shannon et des proportions de vers de terre anéciques et épigés supérieures aux valeurs mesurées dans la parcelle d'agrosystème et proche des parcelles enherbées, et de la forêt sauf pour le site d'Amagne (figure 5.9). Les résultats obtenus dans le chapitre 3 montraient que la densité de vers de terre de la parcelle de TTCR sur le site de Semuy était significativement plus élevée que sur l'agrosystème. L'analyse des parcelles de TTCR et BE sur les 4 sites et sur les 4 temps de prélèvement confirme ce résultat (figure 5.9, tableau 5.3), même si la différence n'est pas significative pour le site de Givry. Un biais potentiel peut être souligné : les vers de terre sous les saules peuvent être concentrés dans les zones non-compactées, c'est-à-dire en dehors du passage des machines de récoltes et de plantation, où ils ont été échantillonnés (Chan and Barchia 2007). L'abondance à l'hectare peut alors être surestimée dans les taillis. L'augmentation de la biodiversité dans les TTCR concernant les opilions, les cloportes et les acariens, ou l'augmentation de la densité lombricienne ont été attribuées à l'arrêt du labour et de l'utilisation de produits phytosanitaires combinés à l'apport des litières au sol (Makeschin 1992, Minor et al. 2004, Lagerlöf et al. 2011). Des différences de biodiversité entre parcelles de TTCR sur les acariens, carabes et par conséquent sur les oiseaux ont pu être constatées en fonction du contrôle des herbacées par les agriculteurs, de l'hétérogénéité et de la structure de la végétation (Ward and Ward 2001, Minor et al. 2004, Schulz et al. 2009). En effet, quand les strates herbacées sous les saules ne sont pas contrôlées, la conversion en TTCR peut augmenter l'hétérogénéité et la diversité de la végétation (Baum et al. 2012) comme c'est le cas pour les quatre parcelles étudiées. Malgré cette diversité herbacée, l'indice de Shannon

fongique sous les saules n'atteint pas ceux des parcelles enherbées mais la diversité végétale et les importantes biomasses herbacées sous les saules (cf. chapitre 9) peuvent contribuer à expliquer les valeurs élevées de densité fongique, des proportions de vers épigés et anéciques et de la diversité lombricienne sous les TTCR par rapport à l'agrosystème (Hooper et al. 2000, Wardle et al. 2004).

Dans cette étude et pour les deux prélèvements étudiés, la densité, la diversité et la structure des communautés bactériennes étaient des paramètres peu ou pas sensibles aux quatre usages du sol étudiés et ne discriminaient pas les TTCR de l'agrosystème. Les champignons (structure des communautés, densité et diversité) sont plus sensibles aux changements de végétation que les bactéries car les formes symbiotiques sont en interactions directes avec les plantes et les basidiomycètes saprophytes sont impliqués dans la décomposition de résidus ligneux (Lauber et al. 2008). Les communautés bactériennes, par contre, sont le plus souvent impactées dans le cadre de traitements chimiques des sols (Johnsen et al. 2001, Laurent et al. 2012).

IV.2. Effet du temps et du site sur les paramètres biologiques mesurés

Les facteurs modulant les impacts de TTCR sur les sols sont nombreux : les sites, l'âge des plantations, les antécédents culturels, les écosystèmes environnants, l'itinéraire cultural (temps de rotation, densité de plantation...) (Jug et al. 1999b, Dimitriou et al. 2009).

IV.2.1. Effet du temps

La grande variabilité temporelle des bioindicateurs (Berner et al. 2011, Lebrun et al. 2012) implique un suivi dynamique pour distinguer les effets liés aux usages des fluctuations temporelles (Bastida et al. 2008). La proportion de vers de terre épigés, la densité fongique, le rapport F :B et les indices de Shannon fongiques et bactériens montrent des variations importantes en fonction du temps de prélèvement ($p < 0.001$, tableau 5.4).

Tableau 5.4 : Synthèse des analyses de variances réalisées sur les paramètres liés aux communautés biologiques en fonction des usages (ANOVA usages et ANOVA parcelles), des sites (ANOVA sites) ou en fonction de l'âge et du précédent culturel des parcelles de TTCR (ANOVA antécédent). (F mycorhization : fréquence de mycorhization par les champignons mycorhiziens à arbuscules, structure MA : structure des communautés de champignons mycorhiziens à arbuscules, G16S : densité bactérienne, G18S : densité fongique, F :B : densité fongique/densité bactérienne, H'16S : indice de Shannon bactérien, H'18S : indice de Shannon fongique, structure 16S : structure des communautés bactériennes, structure 18S : structure des communautés fongiques, Bvdt : biomasse lombricienne, Dvdt : densité lombricienne, H'vdt : diversité lombricienne, epi : pourcentage de vers de terre épigés, ane : pourcentage de vers de terre anéciques, end : pourcentage de vers de terre endogés).

	Usages	Temps	Sites	Antécédent
densité des spores			Ama > Sem = Giv = Asf	
F mycorhization			Sem = Giv > Asf = Ama	TTCR/maïs 2006 > TTCR/jachère 2008
structure MA	BE ≠ TTCR ≠ F ≠ A (T1 et T2)			
G16S	F > BE > TTCR = A	1 = 2 > 0 = 4 > 3	Ama > Sem = Giv = Asf	TTCR/maïs 2006 > TTCR/jachère 2008
G18S	TTCR > F = BE > A	0 > 2 = 3 > 1 = 4	Giv > Ama = Sem = Asf	
F:B	TTCR > F = BE ≥ A	0 = 3 > 1 = 2 = 4	Ama > Sem = Giv = Asf	TTCR/jachère 2008 > TTCR/maïs 2006
H'16S		1 > 0	Asf ≥ Sem = Ama ≥ Giv	
H'18S	BE < TTCR = F = A	0 = 2 > 1 = 3 = 4		
structure 16S	TTCR ≠ BE (T0) ; TTCR (sauf Ama) = BE = F = A (T1)		Ama ≠ Asf, Sem, Giv	
structure 18S	TTCR ≠ BE (T0 à T2) ; TTCR ≈ BE ≈ F ≠ A (T3, T4)			
Bvdt*	BE ≥ F ≥ TTCR ≥ A		Sem = Giv = Asf > Ama	TTCR/jachère 2008 > TTCR/maïs 2006
Dvdt*	BE ≥ F = TTCR ≥ A	3 > 1	Asf ≥ Sem ≥ Ama = Giv	TTCR/jachère 2008 > TTCR/maïs 2006
H'vdt*	F > BE = TTCR > A		Sem = Giv = Asf > Ama	
epi*	BE = TTCR = F > A	1 > 3	Asf > Sem = Giv = Ama	TTCR/jachère 2008 > TTCR/maïs 2006
ane*	F ≥ BE ≥ TTCR > C	1 > 3	Sem = Giv > Asf = Ama	TTCR/maïs 2006 > TTCR/jachère 2008
end*	A > TTCR > BE = F		Ama > Sem = Giv = Asf	

* l'effet de l'usage et du temps a été mesuré sans prendre en compte la parcelle d'Amagne

Valeur de p pour les différents indicateurs liés aux communautés biologiques dont la variance est évaluée en fonction des usages, du temps et des sites.

ns.
 < 0.05
 < 0.01
 < 0.001
 < 0.0001

La proportion de vers anéciques et les densités lombriciennes et bactériennes varient également en fonction des temps de prélèvement avec une sensibilité plus faible ($p < 0.05$). En revanche, la biomasse, la diversité lombricienne et la proportion de vers de terre endogés dans les parcelles n'ont pas été modifiées entre les deux temps d'échantillonnage. Les vers épigés sont des reproducteurs de stratégie r, leurs densités seraient alors plus variables que la densité des anéciques (K) au cours du temps (Bouché 1977, Lavelle 1981). Les variations au cours du temps de la densité microbienne sont similaires pour les quatre usages du sol et peuvent s'expliquer par des variations de conditions climatiques. D'autre part, l'effet temps sur les communautés fongiques ne semble pas lié à l'âge absolu des parcelles mais plutôt à l'importance du couvert végétal en place (cf. § IV 1).

IV.2.2. Effet du site

La diversité et la biomasse lombricienne, la proportion de vers endogés, la densité bactérienne et la densité de spores de champignons dans le sol sont cinq paramètres qui distinguent le site d'Amagne par rapport aux trois autres sites (tableau 5.4).

Une grande densité de spores de champignons a été observée dans la BE d'Amagne : l'ensemble du site présentait des structures des communautés bactériennes bien distinctes de celles des autres sites. D'autre part, la densité bactérienne et la diversité lombricienne y sont très faibles par rapport aux autres parcelles étudiées. Le site d'Amagne présente un pourcentage d'argile plus élevé que les autres sites et une CEC également différente pouvant indiquer une minéralogie des argiles différentes. Les différences pédologiques entre le site d'Amagne et Asfeld peuvent expliquer en partie les résultats différents entre ces deux parcelles qui ont pourtant le même antécédent cultural et le même âge. En effet, le pourcentage d'argile est un facteur important contrôlant la diversité de la végétation, première source de carbone des communautés microbiennes (Russo et al. 2012, Corneo et al. 2013).

Des historiques anciens différents pourraient également expliquer une partie des variations observées entre Asfeld et Amagne (Plue et al. 2009).

L'effet site ne s'exprime pas pour Asfeld, Semuy et Givry. Ils ont été choisis pour leurs caractéristiques édaphiques semblables, dans l'objectif de constituer un triplicat de mesure pour quantifier l'impact des TTCR sur le sol.

IV.2.3. Influence de l'âge des parcelles de TTCR et des précédents culturaux

Les biomasses et densités lombriciennes sont supérieures dans les deux parcelles les plus jeunes, plantées en 2008 sur des jachères par rapport aux deux parcelles plantées en 2006 sur des cultures de maïs. Les fréquences de mycorhization, à l'inverse, sont plus élevées dans les parcelles de Givry et Semuy. Par rapport à l'usage du sol initial (l'agrosystème pris comme référence pour les TTCR de Semuy et Givry et les parcelles enherbées des sites d'Asfeld et d'Amagne pour les deux autres TTCR correspondants), un effet positif des TTCR est observé sur les communautés lombriciennes quand les parcelles sont plantées sur agrosystème (augmentation de la biodiversité et de la densité lombricienne après 5 ans). Peu de variations sont observées sur les paramètres lombriciens quand les TTCR sont implantés sur des jachères (Asfeld, après 2 ans). La bande enherbée d'Amagne est soumise au passage de machines agricoles et a subi l'application d'antigerminatif. Elle présente un profil proche de celui de l'agrosystème. Sur ce site, bien que l'antécédent soit prairial, l'installation du TTCR semble avoir augmenté la densité et le pourcentage de vers épigés. Les communautés bactériennes, fongiques et endomycorhiziennes sont relativement similaires entre les parcelles d'Asfeld, Givry et Semuy, ce qui suggère un faible impact de l'antécédent cultural sur les communautés microbiennes.

V. Conclusion

Une forte abondance fongique et un rapport F:B élevé caractérisent les quatre parcelles de TTCR par rapport aux trois autres usages du sol, de plus les parcelles de saules présentent une diversité lombricienne et des proportions de vers de terre épigés et anéciques supérieures à l'agrosystème conventionnel. Les résultats confirment l'importance des microorganismes et de la faune du sol dans l'entretien de la fertilité des parcelles de TTCR, et les résultats obtenus dans les chapitres précédents. L'augmentation de la densité lombricienne, dans les parcelles en TTCR à antécédents maïs par rapport à l'agrosystème, est liée à une augmentation des proportions relatives de vers de terre anéciques et épigés au détriment des vers endogés, majoritaires dans l'agrosystème. La densité fongique et le rapport F:B discriminent très bien les TTCR. Outre l'implication du rapport F:B dans la décomposition des MO et les cycles des nutriments, cet indicateur peut également être relié à un autre processus majeur pour la qualité des sols : la séquestration potentielle de carbone (Bailey et al. 2002). Ces résultats ont donc conduit à considérer ces paramètres pour le calcul d'indices de qualité des sols. Le suivi des parcelles de TTCR sur quatre sites présentant des caractéristiques pédologiques très voisines montre des résultats cohérents. Toutefois, les résultats obtenus sur le site d'Amagne soulignent l'importance des paramètres édaphiques sur les variations des paramètres biologiques.

Chapitre 6. Comparaison de deux méthodes pour estimer l'impact des TTCR sur la qualité du sol : les courbes de réponses principales et le calcul d'indices de qualité.

Résumé

La conversion des terres arables en culture énergétique fait partie des changements majeurs d'usage du sol au 21^{ème} siècle. Les exportations intensives engendrées nécessitent une surveillance de leurs impacts sur la qualité du sol. Dans le chapitre 4, nous avons calculé trois indices correspondant à des paramètres de fertilité, à l'activité biologique et aux communautés biologiques et montré que l'indice de fertilité et celui sur les communautés biologiques de la parcelle de TTCR de Semuy étaient plus élevés par rapport à l'agrosystème. Cependant, l'estimation des indices de qualité des sols (IQS) reposait sur une sélection d'indicateurs et sur des choix *a priori* dans le mode de calcul des indices. Dans le chapitre 5 nous avons montré avec quatre parcelles de TTCR comparées aux autres usages, que les TTCR favorisaient la densité des champignons et la proportion de vers épigés et anéciques du sol par rapport à un agrosystème classique. Cependant, seuls les paramètres biologiques ont été pris en compte. Dans le présent chapitre, l'ensemble des données biologiques et physico-chimiques disponibles pour les parcelles des différents sites ont été utilisées pour, d'une part, calculer des indices de qualité et, d'autre part, analyser ces données par la technique des courbes de réponse principales (chapitre 2, § III). L'impact des TTCR sur les propriétés du sol a ainsi été évalué avec deux méthodes différentes qui sont comparées.

Les courbes de réponse principales et les IQS aboutissent au même gradient de qualité du sol parmi les quatre usages étudiés et confirment les résultats précédents (forêt>bande enherbée>TTCR>agrosystème). Parmi les indicateurs chimiques, biologiques et biochimiques utilisés dans l'analyse, les indicateurs chimiques montrent un poids très fort en particulier la concentration en matières organiques et la capacité d'échange cationique. La respiration basale a également un poids important (facteur de pondération élevé) dans l'analyse de la qualité des sols avec les deux méthodes. En revanche, des différences dans le poids relatif des autres indicateurs biologiques sont observées, en fonction des méthodes utilisées. Ces

différences peuvent être attribuées aux variabilités temporelles et/ou au contexte édaphique. À l'inverse, la diversité fongique, le C/N, le potassium, le sodium échangeable et la densité bactérienne sont peu discriminants, quelle que soit la méthode considérée. La PRC permet une évaluation rapide et visuelle des résultats et évite la répétition du calcul à chaque temps dans le cadre d'un suivi dynamique.

I. Introduction

Il est aujourd'hui impossible de corréler avec certitude les propriétés du sol avec la multitude de services qu'ils remplissent (Robinson et al. 2009, Mace et al. 2012). En conséquence, aucun cadre méthodologique n'est unanimement reconnu pour prendre en compte la qualité des sols dans les choix d'usages ou pour estimer leurs impacts (Milà i Canals et al. 2007, Morvan et al. 2008). Ces difficultés sont imputables aux manques de valeurs de références (Arshad and Martin 2002, Failing and Gregory 2003, Chaer et al. 2009). En effet, les indices de qualité des sols ne peuvent être validés, avec les connaissances actuelles, que dans un contexte pédoclimatique précis car leurs caractéristiques et l'hétérogénéité des sols engendrent des variations très importantes (Reap et al. 2008, Garrigues et al. 2012). Ainsi, les plans d'aménagement du sol sont développés sans l'utilisation d'indicateurs de qualité des sols (Vrščaj et al. 2008, Lehmann and Stahr 2010, La Rosa and Privitera 2013). Le manque de référentiels freine l'inclusion des paramètres du sol dans les analyses de cycle de vie des produits liés aux activités forestières ou agricoles (Garrigues et al. 2012). La dégradation des sols n'est donc pas prise en compte dans les bilans d'impact environnementaux, ni dans les choix de gestion du territoire ou d'orientation des politiques agricoles. Elle menace pourtant directement le bien-être humain (Stallman 2011, Shoshany et al. 2013), car les sols assurent des fonctions environnementales, économiques et sociales (de

Groot et al. 2002) et sont impliqués dans tous les services écosystémiques (Millennium Ecosystem Assessment 2005).

Les méthodes d'évaluation de la qualité des sols doivent alors lier le fonctionnement du sol avec les services écosystémiques pour arbitrer l'affectation des sols en fonction de leurs propriétés (qualité), et des besoins actuels (notion de services), tout en garantissant la multifonctionnalité des sols (conserver des usages potentiels dans le futur) (de Groot et al. 2010, Pulleman et al. 2012). La sélection d'indicateurs, leurs interprétations et leurs agrégations en indices de qualité des sols (IQS) constituent les principales étapes des méthodes d'évaluation. La sélection d'indicateurs parmi les paramètres mesurés (minimum data set, MDS) s'effectue de manière arbitraire (e.g niveaux de corrélation) ou après construction de chaînes de causalité (Niemeijer and de Groot 2008). L'interprétation des indicateurs et leur normalisation sont, elles aussi, soumises à des approximations. La variation des paramètres est considérée comme linéaire dans la majorité des cas (« more is better », « less is better ») car les valeurs seuils ne sont pas identifiées. L'agrégation des indicateurs pour calculer un indice de qualité s'opère par addition des indicateurs normalisés. Ceux-ci peuvent être pondérés par leurs coordonnées sur les composantes d'une ACP (Andrews et al. 2002, Shukla et al. 2006, Blecker et al. 2013) ou par leurs contributions estimées dans la fourniture de services écosystémiques (Rutgers et al. 2012). Le calcul d'IQS, dans le cadre d'une surveillance temporelle de la qualité du sol, implique la répétition du calcul à chaque temps et l'utilisation d'ACP ne permet pas de visualiser l'évolution dans le temps des parcelles avec un grand nombre d'indicateurs (Van den Brink and Ter Braak 1999) Van den Brink et al. 2009). En effet, les résultats présentés sur des graphes à deux axes sont souvent trop chargés pour permettre l'interprétation des modifications au cours du temps.

Les courbes de réponse principale (PRC) (de l'anglais *Principal Response Curve*) sont une forme particulière d'analyse de redondance, elle-même pouvant être considérée comme une

forme contrainte d'ACP (Van den Brink 1999, Van den Brink et al. 2009). Elles évaluent dans le temps des données provenant d'expériences avec plusieurs traitements et un contrôle (Van den Brink et al. 2009). Cette technique permet d'identifier parmi un ensemble de paramètres mesurés ceux qui contribuent à expliquer significativement les différences observées. Elle a déjà été utilisée récemment pour évaluer le fonctionnement biologique d'un sol contaminé (Cébron et al. 2011). Cependant, à notre connaissance, les PRC n'ont jamais été appliquées pour suivre la qualité du sol.

Dans le chapitre 4, la construction d'IQS a été utilisée pour positionner le TTCR dans un gradient d'anthropisation agricole (forêt > TTCR > bande enherbée > agrosystème). Elle consistait à sélectionner des indicateurs parmi les paramètres mesurés en supprimant les indicateurs qui étaient corrélés à plus de 0.95. A partir de ces indicateurs, l'IQS a été calculé en additionnant les indicateurs normalisés et pondérés par leurs capacités à discriminer les usages. Trois indices correspondant à des paramètres de fertilité, à l'activité biologique et aux communautés biologiques ont été calculés. L'indice de fertilité et celui sur les communautés biologiques de la parcelle de TTCR de Semuy étaient plus élevés par rapport à l'agrosystème. Cependant, l'estimation des indices de qualité des sols (IQS) reposait sur une sélection d'indicateurs et sur des choix *a priori* dans le mode de calcul des indices. L'objectif du chapitre 6 était de comparer la méthode d'IQS et l'utilisation des PRC pour évaluer l'impact des TTCR sur la qualité des sols au cours du temps. Afin de comparer les deux méthodes, et parce que les PRC ne sélectionnent pas les indicateurs par des niveaux de corrélation, l'ensemble des paramètres discriminants a été inclus pour évaluer les poids respectifs des indicateurs biologiques, chimiques et biochimiques.

II. Matériel et méthodes

II.1. Sites sélectionnés

Comme dans les chapitres précédents, les parcelles de TTCR des sites de Semuy, Givry, Asfeld ont été prises en compte ainsi que les parcelles d'agrosystème et de forêt situées autour du site de Semuy. Les parcelles du site d'Amagne n'ont cependant pas été prises en compte, car elles présentent des caractéristiques pédologiques différentes des autres sites ce qui a des conséquences sur le niveau des indicateurs biologiques (chapitre 5).

II.2. Analyses

Un ensemble de 22 paramètres représentant des propriétés biologiques et chimiques du sol mesurées du prélèvement T1 (automne 2010) au T4 (printemps 2012) est utilisé. Ces 22 paramètres, qui reflètent la fertilité physico-chimique, l'activité biologique et la fonction d'habitat et de réservoir en biodiversité du sol, et ont été considérés comme indicateurs de qualité du sol (chapitre 3 et 4), sont présentés dans le tableau 6.1. Les méthodes d'analyses utilisées sont décrites au chapitre 2, dans les paragraphes indiqués dans le tableau 6.1. La faune n'a pas été incluse dans cette analyse car les données n'étaient pas disponibles sur l'ensemble des quatre prélèvements, les vers de terre n'ayant été échantillonnés qu'aux automnes (cf. Annexe 2).

II.3. Calcul des indices de qualité des sols

Le calcul d'indices de qualité du sol (IQS), à chaque temps et sur chaque parcelle, a été effectué comme au chapitre 4, en utilisant la méthode décrite par Velasquez et al. (2007) en prenant en compte les améliorations proposées par Rossi et al. (2009). Dans ce chapitre, les

indicateurs n'ont pas été séparés pour calculer trois indices illustrant trois fonctions différentes mais un indice global a été calculé.

Tableau 6.1 : Ensemble des paramètres utilisés pour réaliser les courbes de réponses principales et pour calculer les indices de qualité du sol.

indicateurs	abréviations	unités	méthodes
fertilité (réserve minérale et hydrique)			
matière organique	MO		
azote total	Ntot		
carbone total	Ctot	g/kg	
phosphore disponible	P		
Corganique/azote total	C/N		
capacité d'échange cationique	CEC		Cf. Chapitre 2 § II.1
Ca échangeable	Ca		
Na échangeable	Na	cmol+/kg	
K échangeable	K		
Mg échangeable	Mg		
humidité du sol	HS	%	
activité biologique (fonctionnement des cycles biogéochimiques)			
respiration basale	RB	g _{C-CO2} /g _{sol} sec/min	Cf. Chapitre 2 § II.2.2
taux de minéralisation du carbone	TMC	‰	
hydrolyse de la FDA	FDA		
laccase	Lase		
β glucosidase	Gase	mU	Cf. Chapitre 2 § II.2.1
cellulase	Case		
phosphatase alcaline	Pase		
communautés microbienne (habitat et réservoir en biodiversité)			
densité fongique	G18S	ADNr 18S/g _{sol} sec	Cf. Chapitre 2 § II.3.1.d
densité bactérienne	G16S	ADNr 16S/g _{sol} sec	
ADNr 18S/16S	F/B	%	
diversité fongique	H'18S	—	§ II.3.1.c

Comme dans le chapitre 4, les données concernant chaque paramètre sont tout d'abord normalisées. Pour tous les paramètres considérés dans ce chapitre, les plus fortes valeurs ont été considérées comme bénéfiques pour la qualité du sol. Chaque valeur d'un paramètre est divisée par la plus forte valeur observée dans les données. Cette dernière obtient alors un score ou niveau égal à 1. Une ACP est ensuite réalisée avec l'ensemble des données, où seules les composantes ayant des valeurs propres supérieures à 1 sont utilisées dans l'analyse (Kaiser

1960). Les facteurs de pondération pour chaque indicateur (W_i) sont alors calculés de la manière suivante :

$$W_i = \sum_{j=1}^n \lambda_j \times f_j$$

Où λ_j est le vecteur propre au carré de l'indicateur i sur la composante principale j . Et f_j est le % de variabilité expliquée par la composante j par rapport à la variabilité totale expliquée par l'ensemble des composantes sélectionnées (composante ayant des valeurs propres >1). L'indice de qualité du sol d'un échantillon est alors calculé de la façon suivante :

$$SQI = \sum_{i=1}^n S_i \times W_i$$

Où S_i désigne le score des indicateurs pour l'échantillon (S_1-S_n) et W_i leurs poids respectifs (W_1-W_n) et $n=22$ dans ce chapitre.

L'analyse de la variance entre les usages du sol pour chaque indicateur ou indice est estimée par une ANOVA à deux facteurs (usage, temps). Des ANOVA parcelles et sites ont été réalisées pour tester la variance inter parcelles et inter sites des IQS (chapitre 5). L'ensemble des tests et des conditions sont précisés dans le chapitre 2 § III.

II.4. Courbes de réponses principales

L'analyse des données par PRC a été effectuée par J.Cortet, avec la version 5.0 du logiciel Canoco (Ter Braak and Smilauer 2002). L'ensemble des données est normalisé avant l'analyse. Seuls les indicateurs avec un poids d'au moins $|0.5|$ sont considérés comme significatifs dans la discrimination des parcelles (Cébron et al. 2011). Le résultat de l'analyse est un diagramme sur lequel le temps est affiché en abscisse et le coefficient canonique par rapport au témoin en ordonnée. Un second graphique attaché à la PRC indique le poids des indicateurs pour expliquer les données. La valeur de p et le rapport F , pour la significativité

du premier axe canonique de la PRC, sont obtenus par le test de permutation de Monte Carlo et par un test F.

III. Résultats

III.1. Evolution temporelle et corrélation des paramètres sous les quatre usages du sol

L'analyse des données sur les différents indicateurs (ANOVA usage, tableau 6.2) montre que la respiration basale du sol, l'humidité du sol, l'hydrolyse de la FDA, l'activité laccase, la densité fongique, le rapport des densités fongiques sur bactériennes, les cations échangeables Mg, Na et Ca et la capacité d'échange cationique étaient plus élevés dans les parcelles de TTCR que dans l'agrosystème. À l'inverse, le C/N et le carbone total étaient plus élevés dans l'agrosystème. La densité fongique des TTCR était équivalente à celle observée sous forêt ou bandes enherbées, et le ratio F:B était supérieur dans les TTCR par rapport aux trois autres usages. Pour l'ensemble des autres indicateurs, les parcelles de TTCR avaient des valeurs inférieures à celles observées sous forêt et/ou sous les bandes enherbées (tableau 6.2). Les paramètres mesurés varient de manière aléatoire en fonction des saisons excepté le niveau de phosphore disponible dans les sols qui reste constant dans le temps (tableau 6.2). Les variations au cours du temps de l'humidité du sol, des activités phosphatase, β -glucosidase, cellulase et laccase et également du C/N et du Ca échangeable étaient plus significatives (valeurs de p inférieures) que celles des autres indicateurs (effet du temps de l'ANOVA usage). Le rapport F:B, la diversité fongique et l'azote total variaient également significativement en fonction du prélèvement ($p < 0.001$). A l'inverse, les autres indicateurs et notamment les densités fongiques et bactériennes, l'hydrolyse de la FDA, le magnésium et le sodium échangeable variaient moins entre les prélèvements ($p < 0.05$). Quatre activités

enzymatiques (phosphatase, β glucosidase, cellulase, hydrolyse de la FDA) avaient des valeurs plus élevées à l'automne 2011 (T3).

La CEC, le Ca échangeable, la concentration en MO et l'azote total étaient corrélés entre eux à $r > 0.8$ (tableau 6.3) et la β glucosidase et la cellulase étaient corrélées à $r = 0.94$. Le taux de minéralisation du carbone était corrélé à 0.65 avec la respiration basale du sol. De bonnes corrélations entre les activités d'hydrolyse de la FDA, cellulase, β glucosidase et phosphatase (> 0.58) peuvent être soulignées.

III.2. Mesure de la qualité du sol des parcelles par les IQS

Le calcul de l'IQS montre pour les parcelles de TTCR un indice significativement inférieur à celui des bandes enherbées et de la forêt mais supérieur à celui de l'agrosystème (figure 6.1, ANOVA usage).

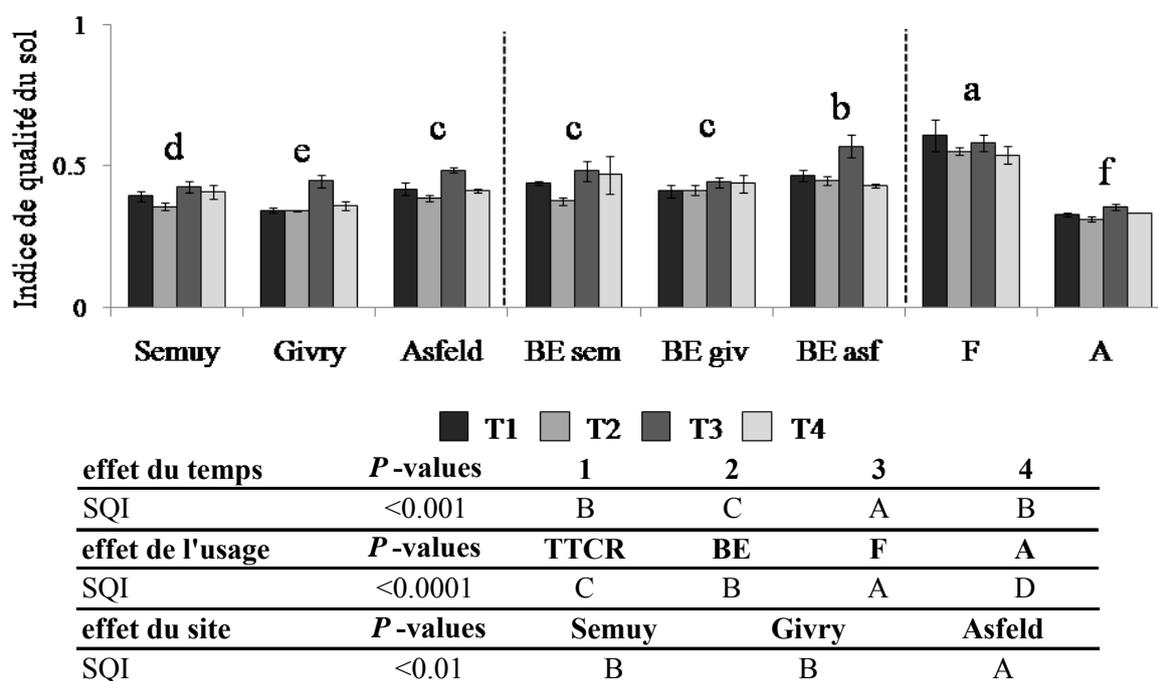


Figure 6.1 : Indices de qualité du sol (IQS) calculés à partir des 22 paramètres mesurés sur les parcelles de TTCR, de bandes enherbées, d'agrosystème et de forêt des sites d'Asfeld, Givry et Semuy aux quatre temps de prélèvements et analyse de variance des données (ANOVA temps, usage, site). Les lettres minuscules sur le graphique représentent les résultats de l'ANOVA à deux facteurs (parcelles, temps) avec $p < 0.001$. Les 22 paramètres utilisés sont présentés dans le tableau 6.1.

Tableau 6.2 : Valeurs moyennes (n = 3) des 22 paramètres analysés sur les différentes parcelles lors des échantillonnages de T1 à T4 : Respiration basale (RB), taux de minéralisation du carbone (TMC), humidité du sol (HS), activité phosphatase (Pase), activité glucosidase (Gase), activité cellulase (Case), activité d'hydrolyse de la FDA, activité laccase (Lase), G16S, G18S, nombre de copies de gènes d'ARNr 16S ou 18S/g sol sec, densité fongique/densité bactérienne (F :B), diversité fongique (H18S), concentration en matière organique (MO), C/N, carbone total (Ctot), azote total (Ntot), phosphore disponible (P), cations échangeables (Ca, Mg, Na, K) et capacité d'échange cationique (CEC). Les résultats de l'Anova à deux facteurs (temps, usage du sol) sont présentés à la fin du tableau (n=96).

	Semuy				BE Sem				Givry				BE Giv				Asfeld			
	T1	T2	T3	T4																
RB	1.2.10 ⁻⁸	8.7.10 ⁻⁹	1.1.10 ⁻⁸	1.6.10 ⁻⁸	1.2.10 ⁻⁸	2.1.10 ⁻⁸	1.1.10 ⁻⁸	1.4.10 ⁻⁸	7.4.10 ⁻⁹	1.4.10 ⁻⁸	9.6.10 ⁻⁹	1.1.10 ⁻⁸	2.6.10 ⁻⁸	1.8.10 ⁻⁸	1.1.10 ⁻⁸	2.4.10 ⁻⁸	1.6.10 ⁻⁸	6.4.10 ⁻⁹	6.6.10 ⁻⁹	1.4.10 ⁻⁸
TMC	5.04	3.47	4.50	6.99	4.37	8.59	3.53	5.44	5.73	8.81	4.67	8.37	11.45	5.70	5.07	9.72	6.95	3.17	3.36	6.34
Pase	3.3	1.2	8.4	0.8	4.2	1.7	7.7	1.5	1.9	1.2	8.8	0.8	2.5	0.9	7.6	1.0	2.2	1.7	9.0	0.9
Gase	4.1	5.4	38.7	4.4	10.1	14.8	45.3	11.0	2.7	9.9	42.1	4.8	3.2	9.4	43.9	7.2	9.4	14.4	53.1	4.5
Case	1.2	1.2	8.9	0.8	4.9	4.0	10.1	2.2	0.9	2.1	7.3	0.9	1.1	2.3	17.6	1.4	2.3	3.2	13.9	1.2
FDA	3.4	4.0	3.7	3.7	5.7	4.5	6.3	5.0	2.0	4.6	6.5	3.2	3.6	5.0	5.8	4.4	5.0	4.5	7.0	4.1
Lase	149.8	44.2	51.7	200.7	121.7	45.1	49.6	147.8	108.3	33.9	53.3	83.1	93.7	51.5	51.8	91.8	94.0	42.0	57.8	81.5
G16S	9.6.10 ⁸	1.1.10 ⁹	6.7.10 ⁸	8.9.10 ⁸	1.5.10 ⁹	1.2.10 ⁹	1.2.10 ⁹	1.1.10 ⁹	1.2.10 ⁹	8.8.10 ⁸	5.7.10 ⁸	6.7.10 ⁸	1.5.10 ⁹	1.3.10 ⁹	6.3.10 ⁸	9.5.10 ⁸	9.1.10 ⁸	8.7.10 ⁸	5.4.10 ⁸	8.7.10 ⁸
G18S	1.2.10 ⁷	1.1.10 ⁷	1.4.10 ⁷	4.9.10 ⁶	3.4.10 ⁶	6.5.10 ⁶	2.8.10 ⁶	1.6.10 ⁷	1.2.10 ⁷	1.4.10 ⁷	1.9.10 ⁷	2.7.10 ⁶	4.9.10 ⁶	1.4.10 ⁷	1.0.10 ⁷	4.9.10 ⁶	4.9.10 ⁶	1.0.10 ⁷	1.5.10 ⁷	6.5.10 ⁶
F:B	1.2	1.0	2.0	0.6	0.3	0.5	0.3	2.0	1.0	1.7	3.3	0.4	0.3	1.1	1.7	0.5	0.6	1.2	2.9	1.0
H18S	1.5	1.7	1.5	1.7	1.9	2.1	1.8	1.5	1.2	1.1	1.7	2.0	1.9	2.0	1.8	2.0	1.2	1.7	1.6	1.7
MO	47.5	45.6	47.0	49.3	55.6	38.7	62.7	56.1	32.2	27.8	43.3	35.7	41.0	51.1	46.1	53.0	48.4	47.4	50.1	49.2
HS	30.1	19.4	24.5	26.0	29.4	18.4	26.1	29.5	23.8	21.0	20.9	24.0	24.5	18.9	18.7	25.1	29.8	21.2	26.2	27.1
C/N	9.6	9.9	10.1	10.9	10.2	10.0	10.3	9.9	9.7	10.5	10.7	10.7	10.1	10.7	10.5	10.7	9.3	9.9	9.8	10.1
Ctot	38.6	38.2	43.4	37.2	48.1	38.4	46.4	43.3	32.9	31.9	37.3	33.3	37.9	42.2	39.2	42.9	40.8	40.0	42.1	41.2
Ntot	2.9	2.7	2.7	2.6	3.2	2.2	3.5	3.3	1.9	1.5	2.3	1.9	2.3	2.8	2.5	2.9	3.0	2.8	3.0	2.8
P	0.04	0.03	0.05	0.04	0.07	0.04	0.09	0.09	0.06	0.05	0.07	0.06	0.09	0.11	0.09	0.11	0.08	0.07	0.08	0.08
Ca	34.7	38.8	32.2	38.6	36.2	31.9	41.4	39.4	29.3	27.2	34.2	31.3	29.8	34.2	33.8	35.6	38.5	39.6	41.0	39.7
Mg	0.93	0.86	1.13	0.94	1.23	0.84	1.44	1.35	0.87	0.78	1.00	0.92	0.90	0.94	0.97	0.99	1.18	1.10	1.16	1.12
Na	0.11	0.10	0.08	0.13	0.09	0.09	0.15	0.10	0.08	0.06	0.10	0.11	0.07	0.09	0.10	0.10	0.08	0.08	0.09	0.08
K	0.46	0.46	0.64	0.62	0.65	0.38	0.70	0.77	0.53	0.43	0.52	0.57	0.54	0.41	0.45	0.53	0.75	0.58	0.66	0.71
CEC	34.7	38.2	32.3	37.9	35.3	31.8	40.6	39.0	29.4	27.3	34.3	31.5	29.1	34.1	34.3	35.3	37.5	39.5	40.4	39.2

Tableau 6.2 :

	BE Asf				F				A				Effet du temps					Effet de l'usage				
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	p	TTCR	BE	F	A	p
RB	1.9.10 ⁻⁸	1.1.10 ⁻⁸	1.8.10 ⁻⁸	1.5.10 ⁻⁸	3.1.10 ⁻⁸	4.4.10 ⁻⁸	1.8.10 ⁻⁸	3.1.10 ⁻⁸	6.0.10 ⁻⁹	5.4.10 ⁻⁹	5.9.10 ⁻⁹	1.7.10 ⁻⁸	A	A	B	A	**	C	B	A	D	****
TMC	6.48	3.95	7.39	5.71	4.40	8.32	4.35	6.42	3.33	2.48	3.15	9.23	B	B	C	A	**	AB	A	AB	B	*
Pase	3.4	1.2	15.6	1.3	7.7	2.6	13.9	1.3	1.4	1.4	5.9	0.6	B	C	A	C	****	BC	B	A	C	*
Gase	15.8	10.3	88.3	5.3	11.4	15.6	71.8	8.4	12.1	12.2	46.3	4.4	B	B	A	B	****	B	AB	A	AB	*
Case	3.1	2.3	26.6	1.1	3.3	4.4	20.8	1.6	1.6	3.2	10.1	1.0	B	B	A	B	****	B	A	A	B	*
FDA	4.1	2.8	8.9	3.9	4.9	8.9	7.3	5.3	1.8	3.9	4.6	3.5	C	B	A	C	*	C	B	A	D	*
Lase	124.1	65.5	72.9	49.6	202.2	116.5	101.8	227.3	84.0	12.8	13.4	95.4	A	B	B	A	****	B	B	A	C	**
G16S	1.2.10 ⁹	2.2.10 ⁹	5.2.10 ⁸	8.9.10 ⁸	1.4.10 ⁹	1.6.10 ⁹	1.1.10 ⁹	1.1.10 ⁹	1.2.10 ⁹	9.6.10 ⁸	6.4.10 ⁸	6.4.10 ⁸	A	A	C	B	*	B	A	A	B	**
G18S	1.9.10 ⁶	1.1.10 ⁷	1.1.10 ⁷	2.2.10 ⁶	6.3.10 ⁶	6.5.10 ⁶	1.4.10 ⁷	2.9.10 ⁶	9.5.10 ⁵	3.1.10 ⁶	1.3.10 ⁶	7.6.10 ⁵	B	A	A	B	*	A	A	A	B	*
F:B	0.2	0.5	2.1	0.3	0.5	0.4	1.7	0.3	0.1	0.3	0.2	0.1	B	B	A	B	***	A	B	B	B	*
H18S	1.5	2.2	2.0	1.9	1.8	1.9	1.8	1.3	1.8	2.0	1.7	0.7	B	A	AB	B	***	B	A	B	B	*
MO	57.0	57.8	47.7	60.6	119.0	83.5	76.8	95.8	41.7	44.7	41.2	41.1	A	C	B	A	**	C	B	A	C	****
HS	31.7	19.3	26.6	25.1	34.8	28.6	28.1	35.8	25.7	11.8	20.8	24.9	A	D	C	B	****	B	B	A	C	****
C/N	9.4	9.8	10.4	10.2	11.1	10.8	10.8	10.9	10.1	11.1	11.0	9.7	B	A	A	A	****	C	C	A	B	*
Ctot	46.9	46.4	46.0	49.6	76.3	57.6	52.7	63.9	50.1	52.3	47.5	31.3	A	BC	B	C	**	C	B	A	B	****
Ntot	3.5	3.4	2.6	3.4	6.2	4.5	4.1	5.1	2.4	2.3	2.2	2.5	C	B	B	A	***	C	B	A	C	****
P	0.12	0.13	0.13	0.12	0.07	0.05	0.04	0.05	0.07	0.08	0.06	0.07	A	A	A	A	****	B	A	B	B	****
Ca	39.2	44.0	34.0	40.7	58.3	50.5	51.1	55.3	22.4	22.1	22.0	28.5	B	B	B	A	****	B	B	A	C	****
Mg	1.22	1.12	0.98	1.15	1.84	1.38	1.29	1.40	0.58	0.55	0.55	0.79	A	C	B	AB	*	C	B	A	D	****
Na	0.09	0.09	0.09	0.08	0.13	0.13	0.14	0.12	0.04	0.03	0.08	0.07	B	B	A	AB	*	B	B	A	C	****
K	0.85	0.65	0.67	0.83	0.61	0.51	0.50	0.67	0.68	0.54	0.65	0.48	A	B	A	A	**	A	A	A	A	****
CEC	38.4	43.9	34.2	40.0	55.3	50.1	51.1	51.7	22.3	21.8	21.4	28.6	C	B	B	A	**	B	B	A	C	****

Tableau 6.3 : Matrice de corrélations de Pearson de l'ensemble des indicateurs aux quatre temps (T1 à T4). Les valeurs en gras représentent des corrélations significatives à p<0.05. Les cases grises soulignent les deux corrélations supérieures à 0.95. Respiration basale (RB), taux de minéralisation du carbone (TMC), humidité du sol (HS), activité phosphatase (Pase), activité glucosidase (Gase), activité cellulase (Case), activité d'hydrolyse de la FDA, activité laccase (Lase), G16S, G18S, nombre de copies de gènes d'ARNr 16S ou 18S/g sol sec, abondance fongique/abondance bactérienne (F :B), diversité fongique (H18S), teneur en matière organique (MO), C/N, carbone total (Ctot), azote total (Ntot), phosphore disponible (P), cations échangeables (Ca, Mg, Na, K) et capacité d'échange cationique (CEC)

	TMC	HS	Pase	Gase	Case	FDA	Lase	G16S	G18S	F:B	H18S	MO	C/N	Ctot	Ntot	P	Ca	Mg	Na	K	CEC
RB	0.65	0.50	-0.01	-0.10	-0.07	0.36	0.47	0.29	-0.12	-0.19	0.03	0.59	0.27	0.46	0.57	-0.01	0.53	0.48	0.38	-0.02	0.53
TMS		0.19	-0.21	-0.21	-0.18	0.07	0.15	0.02	-0.15	-0.16	-0.11	-0.13	-0.02	-0.27	-0.14	0.05	-0.06	-0.05	0.05	-0.15	-0.06
HS			0.17	0.01	-0.02	0.20	0.76	0.06	-0.12	-0.08	-0.26	0.59	-0.09	0.44	0.63	-0.06	0.59	0.66	0.40	0.42	0.57
Pase				0.92	0.87	0.58	-0.08	-0.24	0.24	0.38	0.10	0.21	0.18	0.23	0.19	0.07	0.19	0.26	0.25	0.09	0.21
Gase					0.94	0.62	-0.25	-0.30	0.20	0.37	0.14	0.05	0.18	0.11	0.03	0.11	0.05	0.08	0.16	0.04	0.07
Case						0.63	-0.22	-0.29	0.22	0.38	0.16	0.07	0.17	0.12	0.05	0.15	0.08	0.09	0.18	-0.02	0.10
FDA							0.00	-0.12	0.21	0.33	0.15	0.33	0.26	0.26	0.31	0.05	0.39	0.38	0.38	-0.04	0.40
Lase								0.24	-0.11	-0.16	-0.18	0.58	0.06	0.40	0.59	-0.19	0.56	0.52	0.35	0.21	0.54
G16S									-0.12	-0.41	0.34	0.28	-0.11	0.28	0.32	0.13	0.26	0.23	0.05	-0.04	0.26
G18S										0.91	-0.03	-0.08	-0.06	-0.16	-0.07	-0.05	0.08	0.08	0.09	-0.18	0.12
F:B											-0.08	-0.12	-0.02	-0.19	-0.13	-0.04	0.03	0.06	0.06	-0.09	0.06
H18S												0.09	0.27	0.22	0.06	0.26	0.06	0.01	0.09	-0.07	0.07
MO													0.36	0.90	0.99	0.00	0.87	0.80	0.51	0.20	0.84
C/N														0.43	0.22	-0.15	0.13	0.03	0.29	-0.17	0.11
Ctot															0.87	0.08	0.62	0.58	0.28	0.27	0.59
Ntot																0.04	0.89	0.84	0.49	0.24	0.86
P																	-0.03	0.08	-0.13	0.35	-0.02
Ca																		0.89	0.60	0.17	0.99
Mg																			0.56	0.29	0.89
Na																				0.02	0.60
K																					0.17

La parcelle de TTCR d'Asfeld avait également un IQS significativement plus élevé que les deux autres parcelles de TTCR (figure 6.1, ANOVA parcelle), ce qui peut être relié au plus fort rendement à la récolte de novembre 2011 (12.1 tMS/ha/an pour Asfeld et 6.6 et 6.7 pour les parcelles de TTCR de Semuy et Givry). D'après l'ANOVA site, le site d'Asfeld (TTCR et bande enherbée) montre aussi des IQS plus élevés que les deux autres sites. Les valeurs des IQS étaient plus faibles au printemps 2011 (T2) par comparaison aux trois autres temps. Les six premières composantes de l'ACP ont des valeurs propres > 1 (tableau 6.4). Elles expliquent plus de 80% de la variance totale. Le tri des paramètres par leurs facteurs de pondération permet de distinguer les indicateurs les plus importants pour discriminer les sols. La moyenne des facteurs de pondération (W_i) est de 4.5 ± 0.7 . 14 sur 22 des indicateurs ont des facteurs de pondération supérieurs à la moyenne. Le premier quart d'indicateurs qui ont les poids les plus élevés étaient dans l'ordre décroissant : la concentration en matières organiques, l'azote total, le taux de minéralisation du carbone, l'activité glucosidase, le calcium échangeable et la capacité d'échange cationique.

À l'inverse les indicateurs du dernier quart (les 25% qui ont le poids le plus faible) étaient : la diversité fongique, le potassium échangeable, l'activité laccase, le C/N, la densité bactérienne et le sodium échangeable. Le taux de minéralisation du carbone est l'indicateur biologique qui a le poids le plus important.

Quand les facteurs de pondération sont calculés temps par temps, c'est-à-dire en utilisant une ACP différente par temps de prélèvement, la concentration en matières organiques, l'azote total, la capacité d'échange cationique et le calcium échangeable ont systématiquement les poids les plus importants (données non présentées). Si l'on regroupe les différents paramètres mesurés dans les trois catégories (fertilité, activités biologiques et communautés microbiennes) définies dans le tableau 6.1, les proportions des différents indicateurs dans le résultat final des IQS diffèrent en fonction des usages (figure 6.2).

Tableau 6.4 : Valeurs propres, variabilité expliquée par les différentes composantes de l'ACP (F1-6) et f_i calculés. La deuxième partie du tableau indique les vecteurs propres des indicateurs au carré (λ_j) classés par W_i décroissants (correspondant à leur poids dans le calcul des IQS). Respiration basale (RB), taux de minéralisation du carbone (TMC), humidité du sol (HS), activité phosphatase (Pase), activité glucosidase (Gase), activité cellulase (Case), activité d'hydrolyse de la FDA, activité laccase (Lase), G16S, G18S, nombre de copies de gènes d'ARNr 16S ou 18S/g sol sec, abondance fongique/abondance bactérienne (F :B), diversité fongique (H18S), teneur en matière organique (MO), C/N, carbone total (Ctot), azote total (Ntot), phosphore disponible (P), cations échangeables (Ca, Mg, Na, K) et capacité d'échange cationique (CEC).

composantes	F1	F2	F3	F4	F5	F6	
Valeur propre	7.23	4.03	2.01	1.79	1.60	1.37	
Variabilité (%)	32.87	18.33	9.15	8.12	7.28	6.23	
% cumulé	32.87	51.20	60.35	68.48	75.76	81.98	
f_i	0.40	0.22	0.11	0.10	0.09	0.08	
indicateurs classés	vecteurs propres² (λ_j)						W_i (%)
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	
MO	0.12	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	5.31
Ntot	0.13	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	5.30
TMC	0.00	0.02	0.04	0.20	0.18	0.10	5.27
Gase	0.00	0.20	0.01	0.00	0.04	0.00	5.14
Ca	0.12	0.00	0.01	0.00	0.02	0.00	5.05
CEC	0.12	0.00	0.01	0.00	0.02	0.01	4.99
Case	0.00	0.20	0.01	0.00	0.03	0.00	4.98
RB	0.06	0.02	0.00	0.16	0.05	0.04	4.98
G18S	0.00	0.06	0.13	0.00	0.16	0.08	4.97
F:B	0.00	0.11	0.14	0.00	0.06	0.03	4.93
Mg	0.11	0.00	0.01	0.02	0.00	0.02	4.80
Pase	0.01	0.17	0.00	0.00	0.03	0.01	4.80
HS	0.07	0.01	0.06	0.02	0.09	0.00	4.73
Ctot	0.08	0.00	0.08	0.01	0.01	0.03	4.64
P	0.00	0.00	0.08	0.06	0.04	0.29	4.14
FDA	0.03	0.10	0.00	0.05	0.02	0.01	4.07
H18S	0.00	0.00	0.22	0.02	0.05	0.09	3.91
K	0.01	0.00	0.00	0.26	0.09	0.00	3.88
Lase	0.06	0.04	0.05	0.00	0.01	0.02	3.85
C/N	0.01	0.01	0.06	0.15	0.01	0.12	3.84
G16S	0.01	0.05	0.06	0.00	0.05	0.12	3.60
Na	0.06	0.00	0.01	0.03	0.00	0.00	2.82

La fertilité a la plus grande importance dans l'IQS global, et représente un pourcentage significativement plus élevé pour l'agrosystème par rapport aux bandes enherbées. Les indicateurs liés aux communautés biologiques viennent augmenter l'IQS des parcelles de TTCR. Au contraire, l'activité biologique a une proportion plus élevée dans les bandes enherbées et dans la parcelle de forêt.

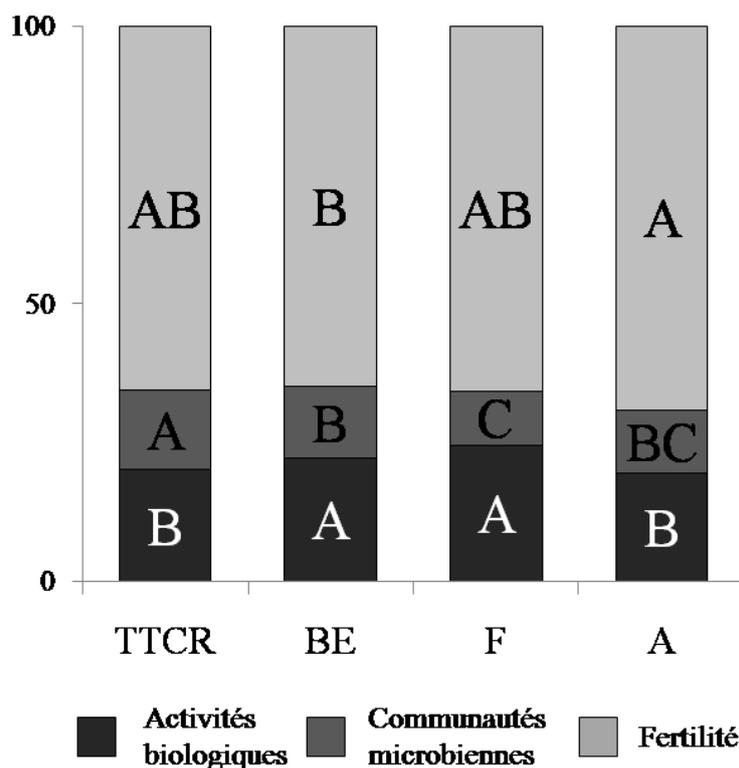


Figure 6.2 : Proportion des trois « fonctions » du sol (activité biologique, fertilité, habitat pour les communautés microbiennes) dans le calcul des indices globaux de qualité du sol. Les lettres majuscules illustrent le résultat de l'Anova (usage, temps) à $p < 0.05$. Les variations des proportions dans le temps ne sont pas illustrées sur la figure, les valeurs utilisées sont les moyennes des quatre temps pour chaque usage.

III.3. Evaluation de la qualité du sol avec des courbes de réponses principales

Les courbes de réponses principales calculées pour l'ensemble du jeu de données sont présentées dans la figure 6.3. Le premier axe de l'analyse représenté sur les figures explique respectivement 44.1, 49.2 et 41.7 % de la variance totale pour les sites de Semuy, Givry et Asfeld (figure 6.3). Sur le site de Semuy, les différences entre parcelles, et par rapport à la bande enherbée, participent à 65.0 % de la variance totale et les différences entre les temps de prélèvements participent à 16.8 %. A Givry, 69.5% de la variance est portée par la variabilité entre parcelles et 17.9% dépend du temps de prélèvement. Ces mêmes valeurs sont de 65.7% et 21.2% sur le site d'Asfeld.

Pour l'ensemble des PRC, les résultats du test de Monte Carlo montrent des différences significatives entre les parcelles ($p < 0.002$). Sur les trois sites, les TTCR sont situés entre leurs BE et l'agrosystème. Les coefficients canoniques sur le site de Semuy sont plus faibles au T3. Les différences entre les parcelles sont expliquées par des indicateurs apparaissant dans la partie droite des figures (figure 6.3). Les indicateurs liés aux communautés biologiques ont des facteurs de pondérations compris entre 0.03 à 0.38, ceux associés à l'activité biologique entre -0.08 et 1.16 et les indicateurs de fertilité chimique sont compris entre -0.40 à 1.84. Par conséquent aucun indicateur lié aux communautés biologiques ne dépasse la limite de significativité fixée à $|0.5|$. Les paramètres qui ont le plus de poids dans la discrimination des parcelles pour les trois sites sont le calcium échangeable, la CEC, le Mg échangeable, l'azote total et la teneur en MO, qui sont plus élevés dans la parcelle de forêt. Un deuxième groupe de paramètres discrimine les parcelles avec un poids un peu plus faible mais significatif : Na échangeable, respiration basale, le carbone total, les activités laccase et FDA et l'humidité du sol. Enfin, l'activité phosphatase et le rapport C/N avec des facteurs de pondérations légèrement >0.5 sont également significatifs pour discriminer les quatre usages du sol sur les trois sites. Selon cette analyse, les autres paramètres n'ont pas un poids significatif pour expliquer les différences entre les parcelles.

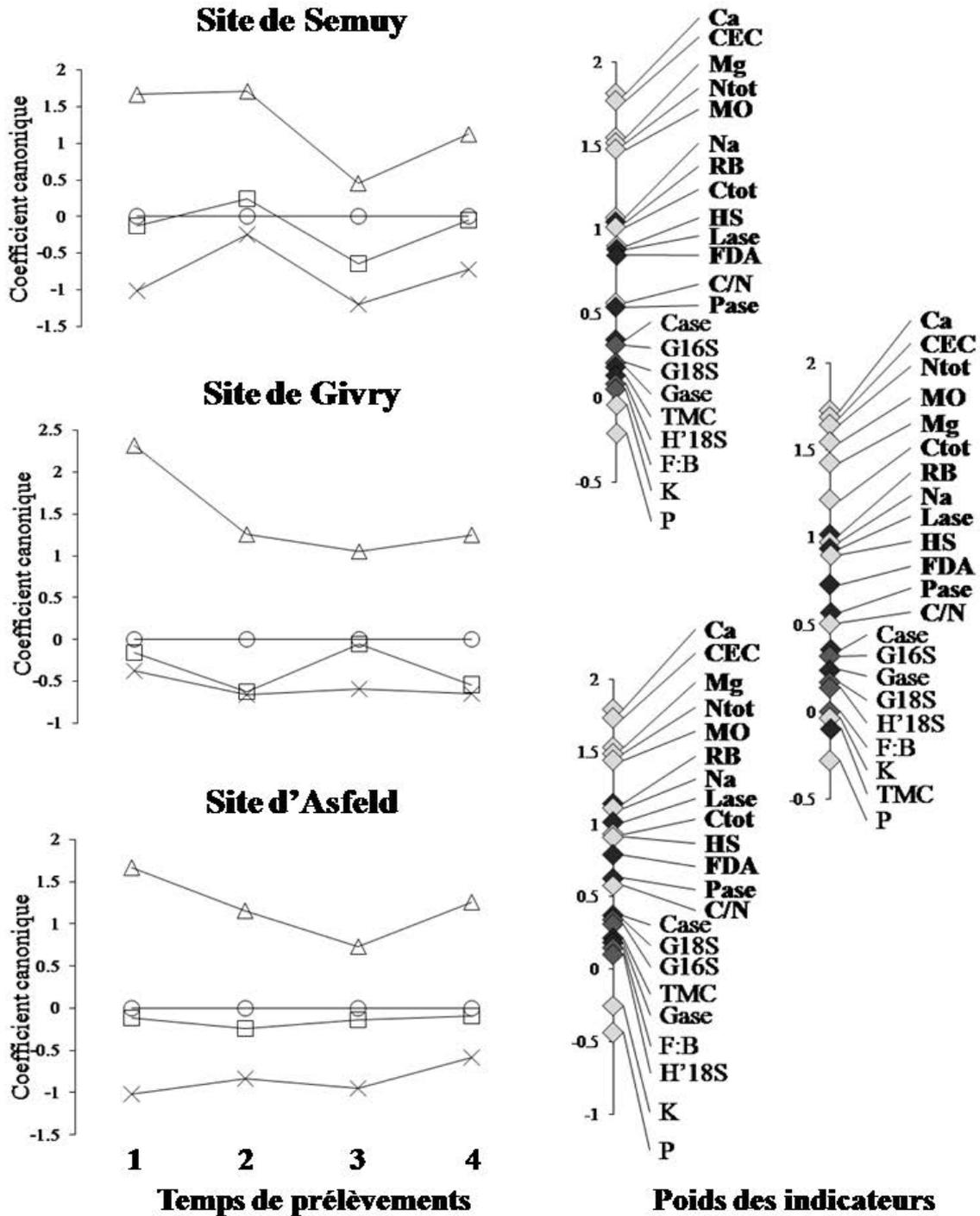


Figure 6.3 : Courbes de réponses principales pour le jeu de données d'indicateurs évalués dans le temps sur les sites d'Asfeld, Givry et Semuy. La valeur du coefficient canonique pour la parcelle de forêt, l'agrosystème et le TTCR (Taillis à Très Courte Rotation) indique la distance par rapport aux Bandes Enherbées (BE) respectives, considérées comme référence (0). Seuls les paramètres avec un poids d'au moins 0.5 ou -0.5 sont appréciés comme indicateurs significatifs.

IV. Discussion

Le choix des indicateurs pour la surveillance de la qualité des sols reste aujourd'hui source de débats (Rutgers et al. 2012). De nombreux auteurs séparent les indicateurs en groupes représentant des fonctions majeures du sol (Velasquez et al. 2007, Yao et al. 2013b), comme nous l'avons fait dans le chapitre 4. L'ensemble des indicateurs suivis sur les quatre temps (T1 à T4) a été utilisé dans ce chapitre afin d'opérer une classification *a posteriori* et d'identifier les indicateurs les plus significatifs pour un suivi sur le long terme de l'effet des TTCR.

Quelle que soit la méthode utilisée, les indicateurs qui ont le plus de poids dans la discrimination entre les parcelles sont la concentration en matière organique, l'azote total, la capacité d'échange cationique et le calcium échangeable. Toutefois, les deux méthodes font aussi apparaître des différences dans le poids des indicateurs. En utilisant les PRC, le magnésium échangeable fait partie des indicateurs qui ont un poids élevé, et on retrouve un groupe d'indicateurs d'activité biologique qui ont un poids significatif : respiration basale, laccase, FDA et phosphatase. Avec la méthode des IQS, le taux de minéralisation du carbone et les activités cellulase et β glucosidase sont parmi les indicateurs qui ont le plus de poids alors que ce n'est pas le cas dans l'analyse par PRC. Dans le chapitre 4, où les indicateurs avaient été séparés selon les trois fonctions (fertilité, activité biologique et habitat pour les communautés biologiques), avant le calcul des IQS, le magnésium échangeable était également parmi les indicateurs chimiques ayant un poids élevé. A l'inverse de l'analyse PRC, l'humidité du sol, les activités laccase, FDA et phosphatase n'étaient pas parmi les indicateurs d'activité biologique les plus importants (chapitre 4). Des différences et des similitudes entre les poids des indicateurs calculés par IQS dans le chapitre 4 et dans ce chapitre peuvent également être soulignées : la respiration basale, les activités cellulase et β glucosidase ont un poids élevé avec les deux IQS calculés. En revanche, le facteur de

pondération du taux de minéralisation du carbone est élevé dans ce chapitre (3^{ème} position) alors qu'il figure parmi les plus bas dans le chapitre 4. Ces différences peuvent illustrer les importantes variations des indicateurs biologiques avec les conditions édaphiques (Karlen et al. 1997, Arshad and Martin 2002). En effet, dans le chapitre 4 les IQS étaient calculés sur le site de Semuy uniquement. Des variations contextuelles des indicateurs étaient également soulignées au chapitre 5, où l'effet du site était significatif entre Givry, Semuy et Asfeld pour l'abondance fongique ($p < 0.05$).

Contrairement au chapitre 4, l'ensemble des indicateurs a été considéré en même temps, et les poids des indicateurs biologiques apparaissent alors plus faibles que celui des indicateurs de fertilité chimique (figure 6.2). Nous avons cependant démontré les importantes modifications des communautés biologiques, avec l'augmentation des densités fongiques et des proportions de vers de terre anéciques et épigés notamment (chapitre 5, figure 5.2 et 5.9) et de leurs activités, laccase en particulier (chapitre 3 et 4) suite à l'implantation des saules. Il est possible que les variations temporelles et saisonnières des indicateurs biologiques diminuent leur poids au profit des indicateurs chimiques plus stables (tableau 6.2). Pourtant, la variabilité temporelle des paramètres biologiques doit être bien considérée (Berner et al., 2011, Lebrun et al., 2012) et l'estimation du fonctionnement du sol nécessite une étude dynamique de ces paramètres (Bastida et al. 2008). Plusieurs très fortes corrélations dans les données sont présentées dans les résultats (tableau 6.3). Elles sont la conséquence du nombre d'indicateurs élevé dans cette étude et du choix d'inclure des indicateurs liés dans le fonctionnement du sol : comme le Ca échangeable et l'azote total qui avaient été supprimés dans le chapitre 4 car ils étaient corrélés avec $r > 0.95$ à la CEC et à la concentration en matières organiques respectivement. Ces corrélations pourraient également expliquer le poids plus important de la fertilité chimique dans l'analyse PRC et dans le calcul d'IQS (figure 6.2). Toutefois, 11 indicateurs impliqués dans la fonction de fertilité ont été inclus dans l'analyse et

11 bioindicateurs. L'importante proportion des indicateurs chimiques dans le calcul d'IQS (figure 6.2) n'est donc pas la conséquence d'un nombre plus élevé de ceux-ci mais plutôt de leurs plus fortes capacités à discriminer les usages du sol conduisant à un poids plus fort des indicateurs chimiques et notamment des quatre suivants : Ca, CEC, MO et Ntot.

D'après ces résultats et ceux du chapitre 4, la concentration en matières organiques, la capacité d'échange cationique et la respiration basale fortement corrélés entre eux apparaissent comme des indicateurs primordiaux dans la discrimination des usages du sol, indépendamment de la technique de mesure de la qualité du sol utilisée ou du site considéré. Le rôle primordial des MO dans l'évaluation de la qualité du sol n'est plus à démontrer. Les MOS sont considérées, dans de très nombreux contextes, comme indicateurs indispensables pour évaluer la qualité des sols (Yao et al. 2013a). Le contenu en matière organique a été sélectionné comme un paramètre raisonnable pour la quantification de 9 sur 10 services écosystémiques (Rutgers et al. 2012) et il est presque unanimement présent dans les MDS proposés dans la littérature (Brejda et al. 2000, Wienhold et al. 2004, Imaz et al. 2010). La teneur en MO, la minéralisation du carbone et l'azote total sont très souvent corrélés (Brejda et al. 2000). Certains auteurs utilisent même uniquement la concentration en MO comme proxy de l'activité biologique du sol (Kirchmann et Andersson 2001). Dans notre étude, la MO est significativement corrélée à la respiration basale, aux activités phosphatases, FDA et laccase, et également à l'abondance bactérienne. Une sélection d'indicateurs *a posteriori* peut être effectuée, pour diminuer le nombre d'indicateurs dans le cadre d'une surveillance à long terme des parcelles de TTCR. En effet, des indicateurs trop nombreux présentent des risques de redondance (CEC et Ca ou MO et Ntot). Le niveau de corrélation, à partir duquel un des indicateurs est supprimé, pourrait être diminué à 0.80 au lieu de 0.95, valeur utilisée dans le chapitre 4. D'autres indicateurs liés aux qualités des MO pourraient être explorés comme le

carbone labile (Ghani et al. 2003) ou des indices liés à la maturité des matières organiques (indice hydrogène, oxygène) (Soto 2009).

Les calculs d'IQS offrent une valeur synthétique pour les utilisateurs. Dans le cadre d'un suivi temporel, la méthode implique cependant un calcul d'IQS temps par temps et un IQS global peut noyer l'information sur les différents processus impliqués. Le calcul de plusieurs indices de qualité (chapitre 4, figure 4.2), et la part relative des fonctions au sein d'un IQS global (chapitre 6, figure 6.2) ont permis de mettre en évidence l'importante contribution des communautés biologiques dans le calcul des IQS pour les TTCR par rapport à l'agrosystème. En revanche, l'utilisation d'ACP, pour le suivi temporel de la qualité des sols comportant de nombreux indicateurs donne lieu à des graphiques en deux dimensions incompréhensibles (Van den Brink et al. 2009). Les seuils et les courbes de réponses des indicateurs nécessitent d'être mieux calibrés pour affiner les calculs d'IQS (Velasquez et al. 2007, Ruiz et al. 2011), mais le calcul d'IQS peut être appliqué partout, sans l'avis d'experts quand les valeurs des références pour un type de sol ou un usage donné sont bien définis (Rutgers et al. 2009, Pulleman et al. 2012).

A l'inverse, les PRC intègrent l'ensemble des temps en même temps. La présentation des résultats est bien adaptée à un suivi temporel de sites avec de nombreux indicateurs. Les PRC permettent également d'évaluer une distance selon les parcelles étudiées. Différentes PRC séparant les indicateurs impliqués dans la fonction de fertilité du sol et les bioindicateurs pourraient aussi être réalisées. Enfin, la PRC n'implique pas d'attribuer des niveaux d'indicateurs « more is better » ou « less is better » qui, pour la plupart, ne sont pas exactes (Rutgers et al. 2012).

Les conclusions sont similaires entre les IQS calculés avec une ACP et les résultats obtenus par PRC quant au classement des parcelles en fonction de leurs usages. Le gradient de qualité du sol, obtenu en fonction de ces indicateurs, est le suivant : forêt > bande

enherbée>TTCR>agrosystème. Ces résultats confirment les observations des chapitres précédents. Les valeurs de SQI les plus élevées ont été obtenues pour la parcelle d'Asfeld présentant le rendement le plus élevé. Le fonctionnement du sol sous les TTCR évolue d'un système agricole classique avec des amendements annuels en NPK vers un système de recyclage des éléments par les apports en matières organiques relativement efficaces (chapitre 4). Cette conclusion est confirmée dans ce chapitre intégrant trois parcelles de TTCR. Aucune perte de fertilité n'est observée dans les parcelles de TTCR par rapport à leurs précédents culturaux respectifs (tableau 6.2). Comme le montraient les résultats des précédents chapitres, la position du TTCR, en fonction des indicateurs mesurés, se situe entre l'agrosystème et la forêt avec un fonctionnement du sol proche de celui des bandes enherbées voisines (figure 6.3). Comme souligné précédemment, les indicateurs liés aux communautés biologiques viennent augmenter l'IQS des TTCR par rapport aux autres usages. Ce résultat confirme les observations du chapitre 5 illustrant les importantes modifications des communautés biologiques suite à l'implantation des TTCR. L'importance de la fertilité pour l'agrosystème (figure 6.2) témoigne d'une production issue d'une importante fertilisation minérale et l'importance de l'activité biologique, dans les bandes enherbées et la forêt, illustre le rôle majeur de l'activité des organismes dans le recyclage des éléments et la productivité primaire des écosystèmes « naturels ».

V. Conclusion

Les deux méthodes aboutissent au même gradient de qualité du sol parmi les quatre usages étudiés et confirment les résultats précédents : forêt>bande enherbée>TTCR>agrosystème. Avec les deux méthodes, les indicateurs les plus discriminants pour les usages considérés et les sites étudiés sont la concentration en matières organiques et les indicateurs qui lui sont corrélés : la capacité d'échange cationique, l'azote total et la

respiration basale. En revanche, pour d'autres indicateurs, l'analyse des données par les deux méthodes montre des résultats différents. La PRC met en avant les activités laccase, FDA et phosphatase alors que dans les IQS de ce chapitre et du chapitre 4, ce sont les activités β glucosidase et cellulase qui présentent les poids les plus élevés. L'humidité du sol discriminait les usages dans l'analyse PRC mais avait un poids faible dans les calculs par IQS. Les indicateurs liés aux communautés biologiques discriminent bien les quatre usages, en particulier l'abondance fongique et le rapport F:B (chapitre 5). Ils ont des poids relativement forts dans les IQS (tableau 6.4, figure 6.2), mais les plus faibles poids en PRC. Enfin, la diversité fongique, le C/N, le potassium, le sodium échangeable et la densité bactérienne sont peu discriminants quelle que soit la méthode considérée pour distinguer le fonctionnement des sols étudiés après 4 ou 6 ans de plantation.

La PRC permet une évaluation rapide et visuelle des résultats et évite la répétition du calcul à chaque temps dans le cadre d'un suivi dynamique. D'autre part, cette technique permet d'éviter un certain nombre de critères subjectifs indispensables dans le calcul des IQS (définition des courbes de réponses des indicateurs, sélection des vecteurs propres...). Ce chapitre démontre le potentiel de la PRC pour la surveillance temporelle de la qualité du sol.

Chapitre 7. Effet à court terme de la plantation de TTCR de saules sur l'évolution des matières organiques de sols alluviaux calcaires.

Résumé

Dans les parcelles de TTCR de cette étude, nous avons montré que la concentration en matière organique du sol (MOS) était significativement corrélée à diverses propriétés chimiques, biologiques et biochimiques (respiration basale, humidité du sol, activités phosphatase alcaline, laccase et d'hydrolyse de la FDA, densité bactérienne, C/N, azote et carbone totaux, Ca, Mg et Na échangeables et CEC) (chapitres 4, 6). C'est également l'indicateur qui a le poids le plus important dans les calculs d'indices (chapitre 4) et sa capacité à discriminer les quatre usages du sol a été démontrée dans les chapitre 3, 4 et 6. Les MOS et certaines de leurs propriétés pourraient donc constituer des indicateurs intégrateurs de la qualité des sols. En effet, la plupart des indicateurs sont définis à l'échelle parcellaire car le coût et la durée des analyses limitent leur nombre et leur généralisation. La variabilité spatio-temporelle des paramètres analysés, biologiques notamment, est une des principales limites à la mise en place d'une évaluation généralisable simple et robuste de la qualité des sols. La qualité et la quantité de matières organiques pourraient sans doute être mesurées plus facilement à grande échelle et de manière plus rapide à des coûts qui pourraient être compétitifs comparativement à d'autres indicateurs potentiels par ailleurs moins intégratifs.

L'objectif de ce chapitre était de comparer trois méthodes d'analyse des MOS (minéralisation potentielle, fractionnement chimique et pyrolyse Rock-Eval) pour définir les changements quantitatifs et qualitatifs des matières organiques suite à l'implantation de TTCR. La biodégradabilité plus importante des MO dans les TTCR par rapport à l'agrosystème ou aux bandes enherbées peut s'expliquer par des fortes proportions de carbone labile et un C/N qui augmente mais qui est resté relativement bas au cours des deux premiers cycles de trois ans. A l'inverse la pyrolyse Rock-Eval indique une MO plus évoluée dans les TTCR que dans les BE. Seule la parcelle de Semuy semble être un puits de carbone sur l'horizon de surface, cependant la CEC des quatre parcelles a augmenté. L'estimation du pool labile est cohérente

entre les trois méthodes, celui-ci est corrélé à l'activité biologique et représente un bon indicateur intégratif de la qualité des sols.

I. Introduction

Les plantations d'arbres en TCR ou TTCR sur des sols arables impliquent une longue période de non labour qui entraîne une augmentation des apports de matières organiques (MO) au sol par les retombées de litière et les apports racinaires (Jug et al. 1999). Dans la phase initiale, la préparation des sites (labour, application d'herbicides) augmente la minéralisation et conduit à des pertes de carbone organique et d'azote (Grigal and Berguson 1998, Jug et al., 1999, Lockwell et al. 2012). A long terme, ces cultures à des fins énergétiques d'essences à croissance rapide présentent de fortes potentialités pour stocker du carbone organique quand elles sont implantées sur des cultures annuelles (Post and Kwon 2000, Sartori et al. 2006, Baum et al. 2009, Nair et al. 2009, Lockwell et al. 2012). La durée à partir de laquelle la culture devient un puits de carbone varie entre 1 et 15 ans. La séquestration est sans doute plus importante en climat froid, où les taux de minéralisation sont plus faibles (Rytter 2012). Par ailleurs, Amichev et al. (2012) soulignent la potentialité des TTCR de saules pour stocker du carbone dans les sols même s'ils sont implantés sur des anciennes prairies ou après d'autres usages du sol possédant un important stock de carbone. Le temps à partir duquel la culture devient un puits de carbone est alors plus long (22 ans). Concernant la qualité des matières organiques du sol (MOS) et l'allocation du carbone aux différentes fractions de la matière organique, l'afforestation et l'absence de labour augmentent la quantité de matière organique particulaire, la biomasse microbienne et l'agrégation (Six et al. 2000, Mao and Zeng 2010). A titre d'exemple, de plus fortes quantités d'hydrates de carbone, d'acides gras saturés à longue chaîne, de stérols et de subérine étaient observées sous des TTCR de peupliers comparés à une culture de blé (Jandl et al., 2012a, Baum et al. 2013).

Ces modifications moléculaires entraînent à long terme une augmentation du rapport C/N sous les TTCR associée à une diminution de la minéralisation du carbone et une immobilisation de l'azote (Kahle et al. 2007, Baum et al. 2013).

L'étude des changements à court terme sur les matières organiques, suite à l'implantation de TTCR, est complexe car les MO sont constituées de nombreuses molécules carbonées de nature et de réactivité différentes selon les modes d'occupation des sols (Ghani et al. 2003). Par ailleurs, la quantité et la qualité du pool de carbone organique présent dans un sol sont fortement liées aux usages passés (Gregorich et al. 1994). Par conséquent, les modifications quantitatives et qualitatives, à court terme, des matières organiques sont souvent difficiles à distinguer. Le fractionnement des différents pools de carbone par des techniques physiques ou chimiques est utilisé pour répondre à cette difficulté et mieux comprendre la dynamique du carbone organique du sol (Strosser 2010, Saenger et al. 2013). Le pool de carbone organique labile a un turn over très rapide et représente une petite proportion du carbone organique total du sol (Embacher et al. 2007). Mais ce compartiment qui constitue une fraction facilement disponible des MO, est d'un intérêt particulier car il réagit très rapidement aux changements d'usages (Zsolnay 2003, Zagal et al. 2009). Ce pool labile pourrait donc être considéré comme un indicateur intégratif de divers processus pour estimer la qualité du sol et la dynamique du carbone sous les plantations de saules. A l'inverse, le pool considéré comme stable est lié au service de stockage de carbone assuré par les sols.

Ce chapitre visait à déterminer si la conversion de terre arable (jachère ou culture de maïs) en TTCR a modifié, quantitativement et qualitativement la matière organique du sol, et à comparer les méthodes de mesure de la minéralisation potentielle lors d'une incubation, de fractionnement chimique et de pyrolyse Rock-Eval pour évaluer les pools labiles et stables des MOS.

Le pool facilement biodégradable a été évalué à l'aide de dispositifs d'incubation, avec un suivi de la minéralisation potentielle du carbone par la production de CO₂. Le pool considéré comme labile, ainsi que différentes formes chimiques (polysaccharides, sucres réducteurs et composés phénoliques) ont été extraits à l'eau chaude. Le pool stable correspond dans cette étude à la fraction récalcitrante après une hydrolyse acide. Une caractérisation des MO a aussi été effectuée par une méthode physique : la pyrolyse Rock Eval. C'est une méthode rapide qui permet de définir les pools labiles et stables. Elle ne nécessite pas de traitement préalable de l'échantillon et permet de décrire le continuum complet de stabilité des MO (Saenger et al. 2013) même si des développements complémentaires sont encore nécessaires (Sebag et al. 2006).

II. Matériel et méthodes

Les analyses ont porté sur les échantillons prélevés sur les quatre parcelles de TTCR, et les bandes enherbées de Semuy, Givry, Asfeld et Amagne, et les parcelles de forêt et agrosystème décrites au chapitre 2 (§ I.2.2), prélevées à T0 et T1. Afin de discuter des résultats des trois méthodes étudiées pour caractériser les MO des parcelles, les analyses de MO, CEC, C/N, N_{tot} et C_{tot} abordées dans les chapitres précédents et décrites dans le chapitre 2 (§ II.1.1) sont utilisées.

II.1. Biodégradation et minéralisation des MO

La mesure de la biodégradation des MO et de la minéralisation de C et N ont été conduites dans un dispositif d'incubation en cuve pendant 33 jours (chapitre 2 § II.4.1). L'expérience a été réalisée sur les prélèvements de sol d'automne 2010 (T1) et sur les parcelles de TTCR, BE, forêt, agrosystème des sites de Semuy et Givry, à raison de 3 répétitions par échantillon, soit 54 flacons d'incubation. Les mesures portent sur la

minéralisation du carbone (chapitre 2 § II.4.1) (respiration et taux de minéralisation) et de l'azote (nitrification basale et taux de nitrification) (chapitre 2 § II.2.3).

II.2. Fractionnement chimique des MO

Les analyses chimiques des MO ont été réalisées sur les sols utilisés pour l'incubation, c'est-à-dire les échantillons de T1 et également sur ces mêmes sols après 30 jours d'incubation (chapitre 2 § II.2.3). Les échantillons ont été soumis à une extraction à l'eau chaude (120°C) et à une attaque acide (H₂SO₄ à 1M, pH voisin de 0). Le carbone organique dissous dans l'eau chaude et le carbone résiduel dans les sols après l'attaque acide ont été dosés comme décrit au chapitre 2 § II.4.1. Les sucres réducteurs, les polysaccharides totaux et les composés phénoliques totaux ont été dosés après extraction des composés organiques solubles dans l'eau chaude (chapitre 2 § II.4.1.a) sur les sols au temps initial (Ti) et au temps final (Tf) de l'incubation.

II.3. Pyrolyse Rock Eval

Le principe de la pyrolyse Rock Eval (RE) et les techniques de traitement utilisées ont été décrits au chapitre 2, § II.4.2.a. Ces analyses ont été réalisées sur les échantillons des prélèvements du printemps et d'automne 2010 (T0 et T1) des parcelles des quatre sites. En utilisant les résultats de la teneur en carbone organique total obtenu par pyrolyse (COT_{RE}) et le signal déconvolué du pyrogramme S2, plusieurs indices liés à la qualité des MOS et des indices liés à la stabilité biogéochimique des MOS ont été établis (chapitre 2 § II.4.2.b). La déconvolution du pyrogramme S2 fournit quatre courbes gaussiennes dans notre étude. Les courbes F1 à F4 donnent les contributions relatives de quatre «familles» d'hydrocarbures au signal S2. La contribution relative de chaque courbe au pyrogramme S2 a été calculée en rapportant les aires gaussiennes à l'ensemble du pyrogramme S2. Les proportions relatives de ces courbes par rapport à l'ensemble du signal S2 sont intitulées F1, F2, F3 et F4. La courbe

F1 représente un signal typique de la matière végétale fraîche, labile et de la litière du sol, tels que les sucres simples. F2 a été attribuée aux biopolymères plutôt résistants, tels que la lignine et la cellulose. F3 et F4 ont été attribuées respectivement à ce que l'on nommait « substances humiques » (Disnar et al. 2003). Enfin, le paramètre R400 est défini comme la proportion de MO la plus labile pyrolysée avant 400°C (part du pic S2 intégré entre 200 et 400°C. R400 est donc un nombre sans dimension compris entre 0 et 1. Dans ce chapitre les résultats sont exprimés, soit en proportion par rapport au carbone organique initial de l'échantillon soit en quantité extraite par kg de sol.

III. Résultats

III.1. Analyses de MO, C_{tot}, N_{tot} et CEC.

Le carbone total (C miné + C_{org}), l'azote total et la CEC sont significativement corrélés à la MOS (respectivement $r = 0.52, 0.96, 0.68$ avec $p < 0.0001$) et peuvent être des proxys de la biodégradabilité des matières organiques.

Les parcelles de TTCR, après 4.5 ans (pour Semuy et Givry) ou 2.5 ans (pour Asfeld et Amagne) de plantation, ne présentent pas de différences significatives dans la concentration en MO, le rapport C/N et l'azote total comparés à leurs précédents culturaux (agrosystème pour Semuy et Givry et les bandes enherbées d'Asfeld et d'Amagne) (tableau 7.1, ANOVA usage Annexe 6). En revanche, le sol du TTCR de Semuy a une concentration en MO similaire à sa bande enherbée et supérieure à l'agrosystème (tableau 7.1, ANOVA parcelles Annexe 6). Le sol du TTCR d'Asfeld présente une concentration en MO (et en N_{tot}) inférieure à sa bande enherbée. Le site de Givry présente les plus faibles concentrations en MO, N_{tot} et CEC et le site d'Amagne, les plus fortes (Annexe 6). Ces résultats démontrent que l'effet de l'usage peut être biaisé par des différences inter-sites. L'effet quantitatif sur les matières organiques ne s'observe pas de la même manière entre les TTCR de Semuy et Givry

ou entre ceux d'Asfeld et Amagne. Pour conclure, il apparaît que les comparaisons entre les parcelles de TTCR et leurs témoins doivent être conduites site par site (tableau 7.1).

Tableau 7.1 : Comparaison de la concentration en matière organique (MO), du rapport C/N, des concentrations en carbone total (Ctot) et azote total (Ntot) et de la capacité d'échange cationique (CEC) entre les parcelles des TTCR des quatre sites, leurs bandes enherbées respectives et l'agrosystème. (+ - = valeur significativement supérieure, inférieure ou équivalente, les statistiques sont présentés en annexe 6).

TTCR	MO		C/N		Ctot		Ntot		CEC	
	BE	A	BE	A	BE	A	BE	A	BE	A
Semuy	=	+	-	-	-	-	+	+	+	+
Givry	-	-	-	=	-	-	-	-	-	+
Asfeld	-	+	-	-	-	-	-	+	=	+
Amagne	=	+	=	-	-	-	=	+	=	+

Ceci se traduit pour chaque site par les effets suivants :

À Semuy, le TTCR a augmenté la concentration en MO par rapport à l'agrosystème. L'azote total et la CEC sont également plus importants dans cette parcelle que dans la bande enherbée et l'agrosystème. Le carbone total et le C/N sont, en revanche, inférieurs dans le sol de la parcelle de TTCR par rapport aux autres usages.

À Givry, la concentration en matière organique, le rapport C/N, le carbone et l'azote total dans le sol de la parcelle de TTCR sont inférieurs à ceux de la bande enherbée et de l'agrosystème. La CEC est supérieure dans la parcelle de TTCR par rapport à l'agrosystème mais reste inférieure à celle située sous la bande enherbée.

À Asfeld, la concentration en matière organique, l'azote total et la CEC dans le sol du TTCR sont inférieures à celles de la bande enherbée et supérieures à celles de l'agrosystème. Le C/N et le carbone total sont plus faibles dans la parcelle que dans la bande enherbée ou l'agrosystème.

À Amagne, la concentration en matière organique, en azote total et la CEC étaient similaires entre la parcelle de TTCR et la bande enherbée et supérieures à l'agrosystème. Comme pour

les trois autres parcelles, le carbone total était inférieur sous le TTCR par rapport à la bande enherbée et à l'agrosystème.

La concentration en matière organique, l'azote et le carbone total étaient supérieurs à l'automne par rapport au printemps, ce qui pourrait correspondre aux apports de litière (effet du temps, annexe 6). Le C/N a diminué entre T0 et T1. Enfin, le temps n'a pas eu d'effet significatif sur la CEC.

III.2. Biodégradation et couplage des cycles du carbone et de l'azote.

Les mesures de CO₂ dégagé cumulées montrent une augmentation pour toutes les parcelles au cours du temps d'incubation (prélèvements de l'automne 2010) (figure 7.1.A.). (NB : Ces mesures de respiration sur un mois ne doivent pas être confondues avec les mesures de respiration basale effectuées sur sol frais, présentées précédemment (chapitre 3, 4 et 6)). Les sols de la forêt présentent la production la plus importante de CO₂. Les bandes enherbées ont toujours une pente et une respiration maximale plus élevées que les parcelles de TTCR respectives. L'agrosystème présente la cinétique la plus faible et la respiration maximale la plus faible de toutes les parcelles. Les taux de minéralisations de Givry sont similaires pour la bande enherbée et la parcelle de TTCR tandis qu'à Semuy le taux de minéralisation de la bande enherbée est significativement plus élevé que dans la parcelle de TTCR, qui n'est pas significativement différent de ceux de la forêt et de l'agrosystème (figure 7.1.B.).

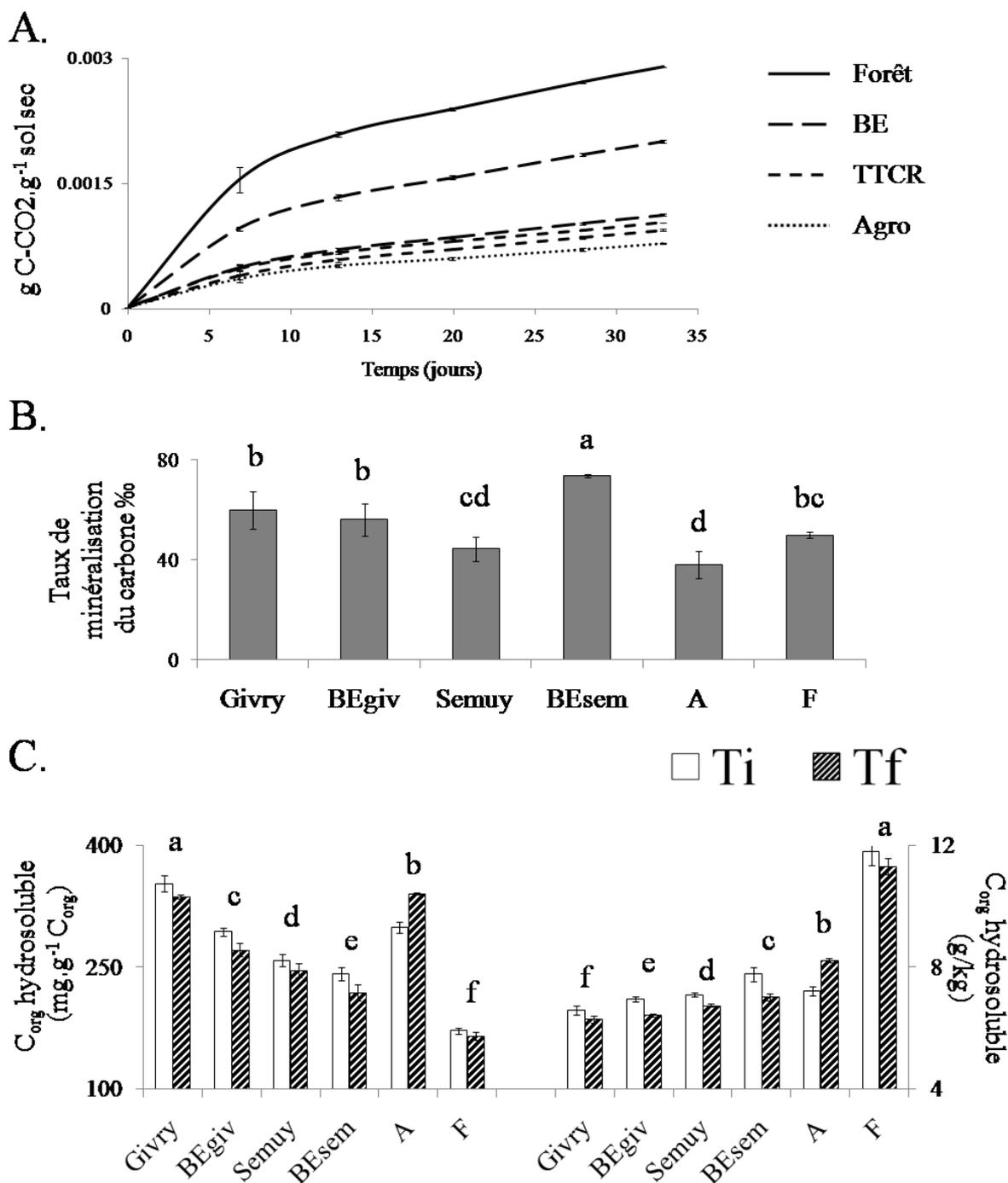


Figure 7.1 : Courbe cumulative d'évolution sur un mois d'incubation de la minéralisation du carbone organique (A.), taux de minéralisation du carbone après 33 jours d'incubation (B.) et effet de la minéralisation sur le C_{org} hydro-soluble (C.) sur les parcelles des sites de Givry et Semuy prélevés en automne 2010 (T1). Les lettres minuscules représentent les résultats de l'ANOVA à un facteur (p < 0.05) (B.) ou ceux de l'ANOVA à deux facteurs (parcelles-temps) (C.), l'effet du temps montre une diminution significative du C_{org} hydro-soluble entre Ti et Tf (p < 0.01).

Parallèlement, une diminution de l'ammonium peut être observée entre Ti et Tf, soulignant une bonne nitrification, confirmée par une forte augmentation des nitrates sur toutes les

parcelles (figure 7.2.A.). La minéralisation de l'azote peut être sous estimée en raison de l'immobilisation et assimilation des formes minérales par les communautés microbiennes.

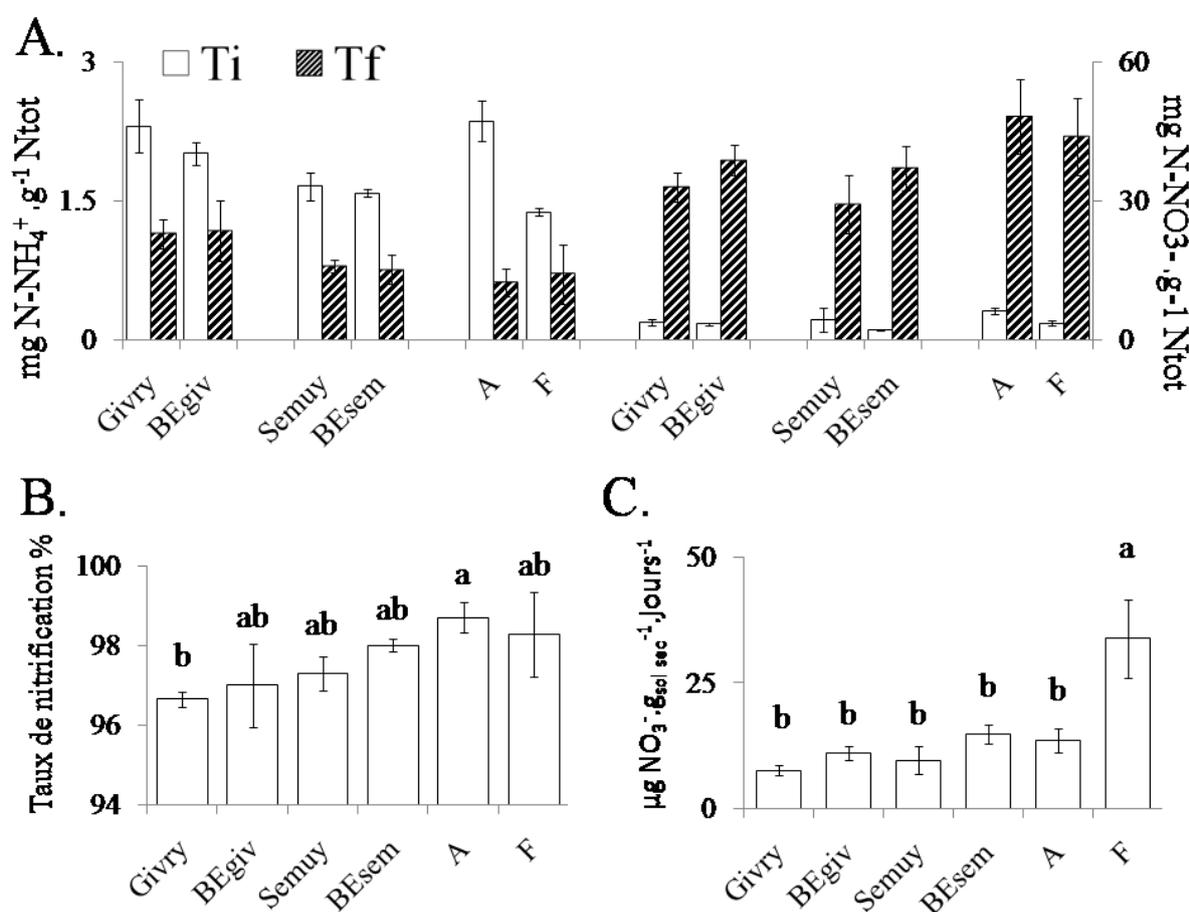


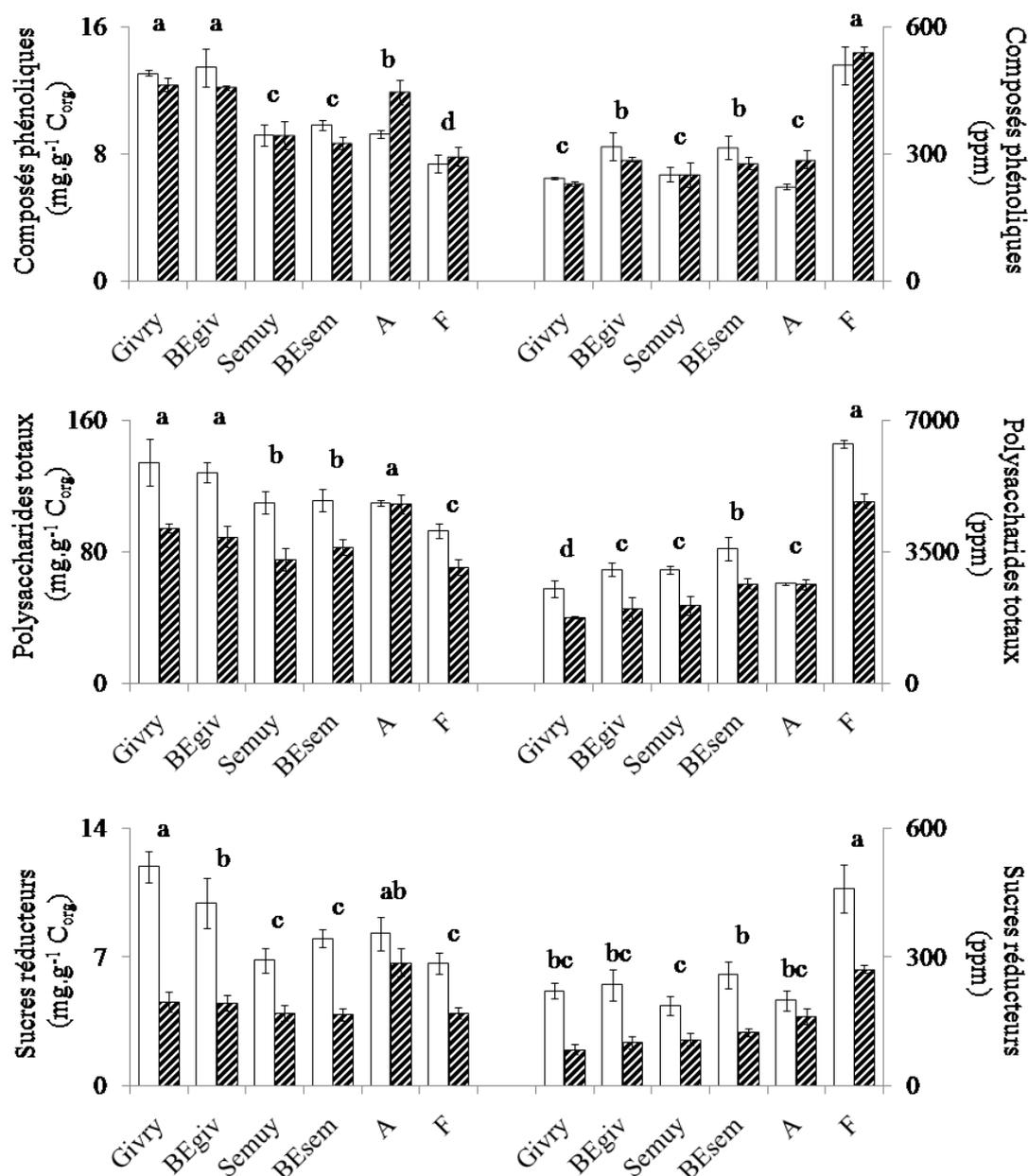
Figure 7.2 : Teneur en ammonium et nitrate des échantillons de sols incubés aux temps initial (Ti) et final (Tf) de l'incubation (A.), taux de nitrification à Tf de l'incubation (B.) et nitrification basale sur les 6 parcelles étudiées des sites de Semuy et Givry. Les lettres minuscules représentent les résultats des ANOVAS un facteur ($p < 0.05$ pour le taux de nitrification et $p < 0.0001$ pour la nitrification basale).

Les taux de nitrification sont équivalents entre les parcelles. Une seule différence significative peut être notée entre le TTCR de Givry qui présente un taux inférieur à l'agrosystème (figure 7.2.B). Comme pour la respiration, l'effet quantitatif des MO favorise la nitrification basale dans le sol forestier où elle est supérieure aux autres parcelles (figure 7.2.C). La quantité totale d'azote minéral ($\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$) augmente entre Ti et Tf (figure 7.2.A), avec une bonne corrélation entre la quantité de NO_3^- produit entre Ti et Tf et le CO_2 dégagé ($r = 0.9$ avec $p < 0.0001$).

III.3. Fractionnement chimique des MO

Les parcelles de TTCR présentent des quantités de C_{org} hydrosoluble (par kg de sol) inférieures à leurs bandes enherbées respectives et inférieures à la forêt et à l'agrosystème (figure 7.1.C.). En revanche, par rapport au carbone organique total des échantillons, les proportions de carbone hydrosoluble (labile) des TTCR étaient supérieures aux BE respectives. Le sol de la parcelle de forêt a la plus faible proportion de C_{org} hydrosoluble par rapport au C_{org} total. Les facteurs croisés de l'ANOVA à deux facteurs (parcelles) sur les données de carbone hydrosoluble, indiquent une diminution significative entre le début et la fin de l'incubation pour l'ensemble des parcelles sauf pour l'agrosystème où le C_{org} hydrosoluble augmente (figure 7.1.C.). La différence de C_{org} hydrosoluble ($T_i - T_f$) est significativement corrélée au taux de minéralisation ($r=0.7$ avec $p<0.001$) soulignant la biodégradabilité de cette fraction.

Dans la fraction labile, les composés phénoliques, sucres réducteurs et polysaccharides totaux représentent respectivement de 8 à 15 pour mille, de 5 à 13 pour mille et de 80 à 150 pour mille du C_{org} total. Parmi ces composés facilement métabolisables, ce sont proportionnellement les sucres réducteurs, puis les polysaccharides et enfin les composés phénoliques qui sont les plus biodégradés. La biodégradation des composés phénoliques semble limitée sous les parcelles de forêt, TTCR et bande enherbée (figure 7.3). En revanche leurs teneurs augmentent dans l'agrosystème au cours de l'incubation. La quantité de composés phénoliques était équivalente entre les deux parcelles de TTCR et la parcelle d'agrosystème et inférieure aux quantités extraites sous les bandes enherbées ou la forêt. Rapportées au carbone organique total des échantillons, les proportions de composés phénoliques sous les TTCR avoisinent celles des bandes enherbées.



Effet de la minéralisation	<i>P-values</i>	Ti	Tf
Composés phénoliques	—	A	A
Polysaccharides totaux	<0.0001	A	B
Sucres réducteurs	<0.0001	A	B

□ Ti ▨ Tf

Figure 7.3 : Effet de la minéralisation sur l'évolution des quantités de composés phénoliques, polysaccharides totaux et sucres réducteurs dans la fraction hydrosoluble des matières organiques au cours de l'incubation de 30 jours, en fonction des usages du sol (TTCR, Bandes Enherbées, Agrosystème et Forêt). Prélèvements d'automne 2010 (T1).

Les polysaccharides totaux présentent une biodégradation forte lors de l'incubation sauf dans la parcelle d'agrosystème où les activités de minéralisation du carbone étaient les plus faibles

(figure 7.1). La quantité de polysaccharides totaux, extraite à partir du sol des TTCR, était inférieure à celle des bandes enherbées. Le TTCR de Semuy indiquait une quantité similaire à celle de l'agrosystème. Comme pour les composés phénoliques, proportionnellement aux quantités de carbone organique total, les valeurs étaient identiques entre les parcelles de TTCR et les bandes enherbées. Enfin, une biodégradation significative des sucres réducteurs qui diminuent d'un tiers ou de moitié en fonction des parcelles est observée dans tous les sols sauf dans l'agrosystème (données statistiques non fournies). La proportion de sucres réducteurs par rapport au carbone organique est plus élevée dans le TTCR de Givry par rapport à la bande enherbée. Cette proportion est équivalente entre le TTCR de Semuy, la bande enherbée respective et la parcelle de forêt.

Les sols des parcelles de TTCR ont une proportion de carbone labile (hydrosoluble à chaud) supérieure à celles des bandes enherbées respectives (figure 7.4). Le sol de la parcelle de forêt présente la plus faible proportion de carbone labile. La proportion de carbone stable (résiduel après hydrolyse par acide fort) est équivalente dans les sols des six parcelles.

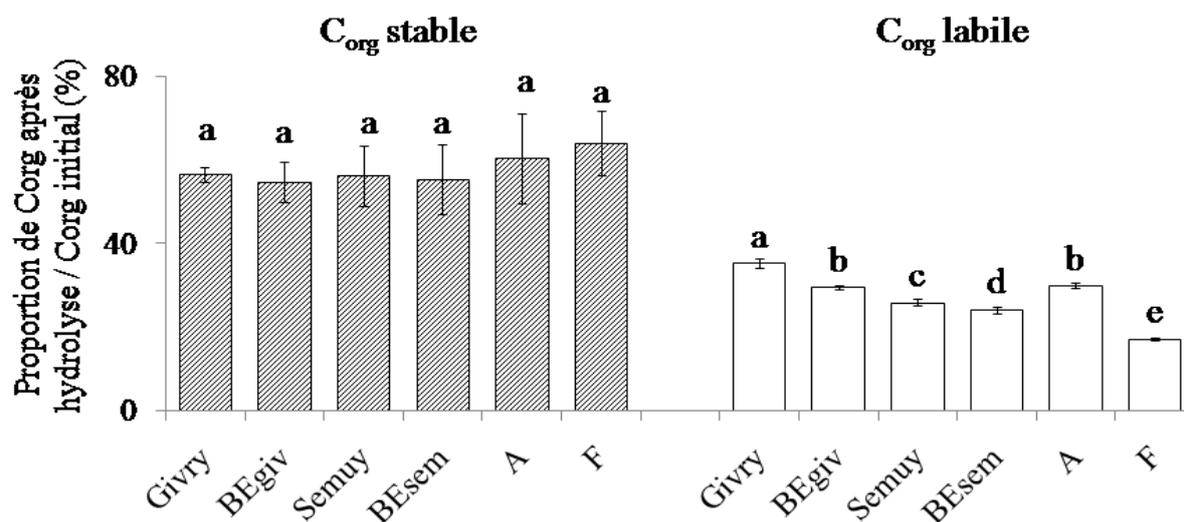


Figure 7.4 : C_{org} dosé dans les échantillons de sol après attaque acide par rapport au C_{org} initial de l'échantillon (C_{org} Stable) et C_{org} dissous après extraction à l'eau chaude par rapport au C_{org} initial (C_{org} labile). Les lettres représentent les résultats des anovas un facteur (p<0.0001).

La somme du carbone soluble à l'eau chaude avec le carbone organique résistant à l'acide représente 79 à 92% du carbone organique initial. Le carbone organique acido-soluble ne représenterait qu'une faible proportion des MO des sols.

III.4. Caractérisation des matières organiques par pyrolyse Rock

Eval (résistance thermique)

III.4.1. Paramètres généraux du signal S2 de pyrolyse RE et COT_{RE}

La proportion de carbone pyrolysé (CP) par rapport au carbone total mesuré dans les échantillons (CP/COT_{RE}) est constante pour les parcelles, 24.6% ± 2.1. Les temps (qui correspondent aux températures) des maximums des quatre courbes gaussiennes (F1-F4) issues de la déconvolution du signal S2 et la température maximale sont relativement homogènes pour l'ensemble des échantillons. En revanche, pour le signal S2, les amplitudes, le carbone pyrolysé (CP) et le carbone résiduel sont plus variables (tableau 7.2).

Tableau 7.2 : Paramètres issus de la déconvolution du signal S2 (mg HC / g d'échantillon). Les temps (secondes), températures (°C) et amplitudes (µV détecté par ionisation de flamme) sont ceux relevés aux maximums des quatre courbes gaussiennes du signal. Tmax (°C) est la température de formation maximale d'hydrocarbures au cours de la pyrolyse, R400 (sans unité) correspond à la proportion de MO la plus labile pyrolysée avant 400°C. Le carbone pyrolysé (CP), le carbone résiduel (CR) et le carbone organique total sont exprimés en g/kg.

	S2	temps				températures				Tmax	R400	
		t1	t2	t3	t4	te1	te2	te3	te4			
Moyenne	4.8	578	714	845	1042	340	407	472	570	411	0.356	
Ecart type	2.6	12	13	7	13	6	7	4	6	6	0.029	
Min	2.0	558	685	829	1009	330	393	464	554	397	0.299	
Max	16.3	606	747	862	1072	354	423	481	584	424	0.469	
	F1	aires				amplitudes				CP	CR	COT
		F2	F3	F4	am1	am2	am3	am4				
Moyenne	24	28	41	7	39	47	69	11	6.0	17.9	23.8	
Ecart type	3	2	3	1	21	28	41	6	2.9	5.9	8.7	
Min	18	18	31	5	18	20	24	4	2.7	10.5	13.3	
Max	33	31	48	9	114	179	256	40	18.5	41.2	59.7	

Le carbone organique total estimé par pyrolyse Rock-Eval COT RE (chapitre 2 § II.4.2) est sous estimé par rapport aux teneurs mesurées avec la méthode par combustion (NF ISO) (figure 7.5). Cependant, la corrélation est très forte.

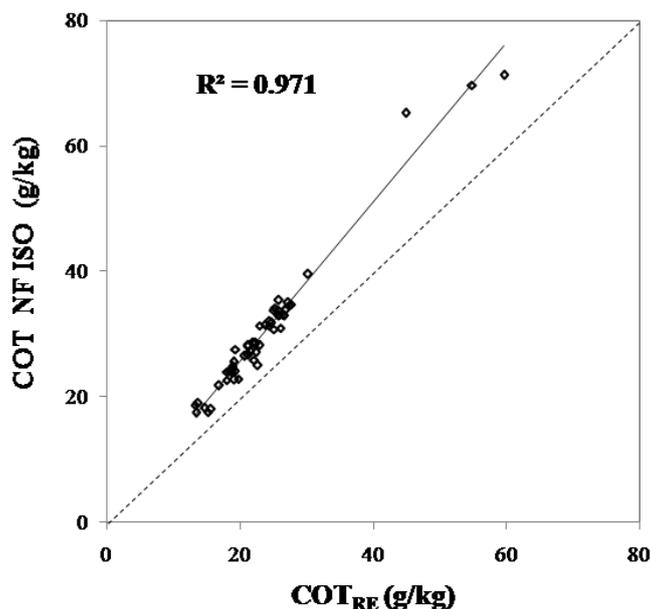


Figure 7.5 : Corrélation entre le carbone organique total (COT NF ISO) mesuré par combustion sèche et le COT mesuré par pyrolyse Rock-Eval (COT_{RE}).

III.4.2. Impact des usages, des sites et du temps sur les MO : estimation par pyrolyse RE

La concentration en matière organique, estimée par pyrolyse RE, discrimine davantage les usages que les sites ($p < 0.0001$ vs. $p < 0.05$) (tableau 7.3). Les variations entre usages ou sites et l'effet du temps sont identiques aux résultats obtenus pour la mesure des matières organiques par combustion (NF ISO, cf. III.1). A l'inverse, les paramètres issus de la pyrolyse et liés à la différenciation de groupes de MO et à leur résistance thermique (courbes F1 à F4, R400 et Tmax) discriminent les sites mais pas les usages. La contribution de la courbe F1 au signal S2 est la plus importante sur le site de Givry où les teneurs en MO sont les plus faibles et la plus faible sur le site d'Amagne où les teneurs sont les plus élevées. Les contributions sont similaires à Semuy et Asfeld et comprises entre celles de Givry et d'Amagne. La contribution de la courbe F2 est identique entre les sites de Semuy et Asfeld et supérieure à

celles des sites de Givry et d'Amagne. Les courbes F3 et F4 du signal S2 et le R400 discriminent le site d'Amagne, où la proportion de matières organiques résistantes aux hautes températures est plus élevée que sur les trois autres sites. Les quatre paramètres liés à la composition élémentaire des matières organiques : l'indice hydrogène (IH) et les indices oxygène (IO_{CO} , IO_{CO_2} et IO_{RE6}) discriminent à la fois les sites et les usages, et varient dans le temps de la même manière que le carbone organique total : IH, IO_{CO_2} et IO_{RE} sont plus élevés à l'automne 2010 qu'au printemps 2010. Le site de Givry présente les IH, IO_{CO_2} et IO_{RE} les plus faibles des quatre sites (tableau 7.3, figure 7.6).

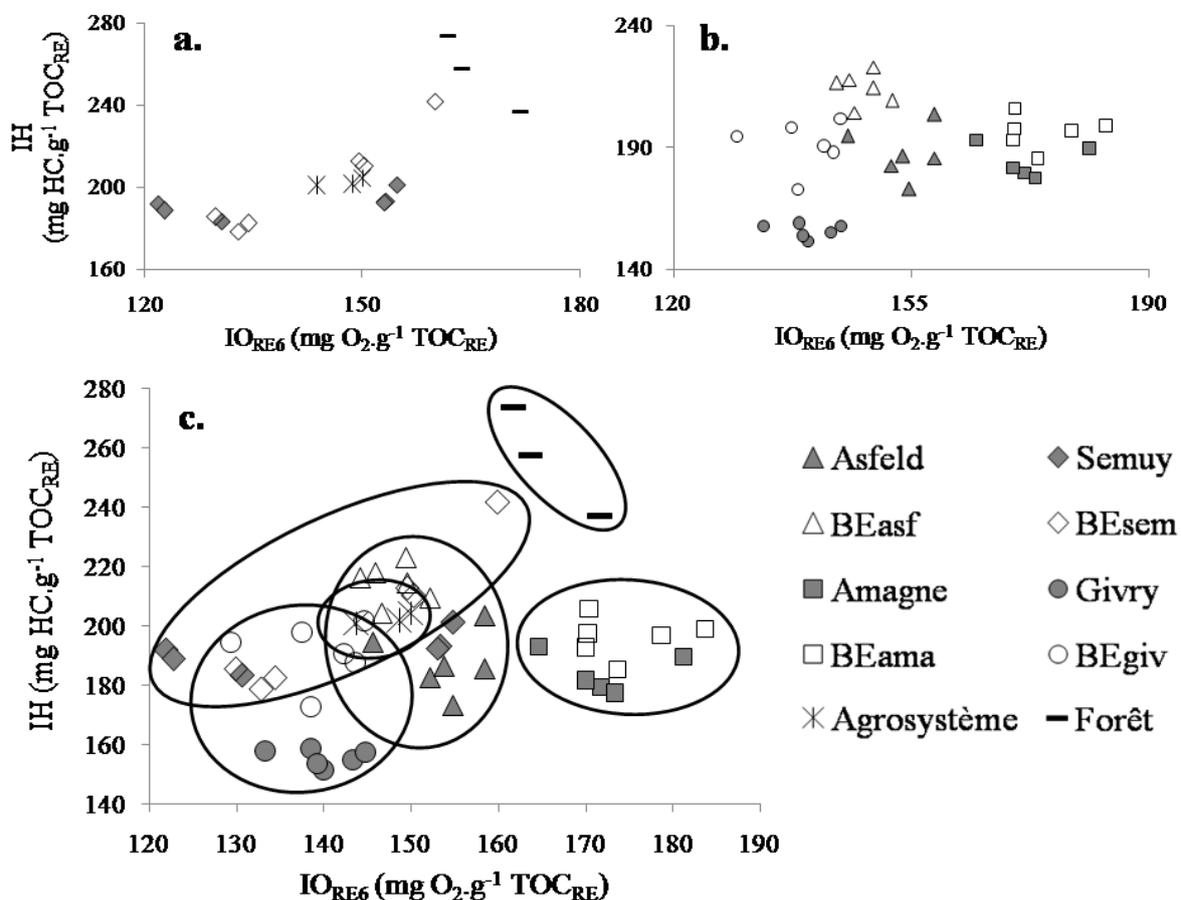


Figure 7.6 : Diagramme IH/IO (Indice Hydrogène/Indice Oxygène) de l'ensemble des parcelles, les échantillons T0 et T1 sont confondus. Le premier graphique illustre la position des échantillons issus des parcelles du site de Semuy sur le diagramme IH/IO (a.), le deuxième la position des échantillons des sites d'Asfeld, Givry et Amagne (b.) et le troisième positionne l'ensemble des échantillons prélevés à T0 et T1.

Tableau 7.3 : Paramètres principaux issus de l'analyse du signal S2 de la pyrolyse RE (a.), les résultats présentés sont les moyennes des triplicats d'échantillonnage à T0 et T1 pour les parcelles des quatre sites suivis des écarts types. La deuxième partie du tableau concerne les résultats des ANOVAS à deux facteurs: sites (Semuy, Givry, Asfeld et Amagne), usage (TTCR à précédent mais T-M, TTCR à précédent jachère T-J, bandes enherbées BE, forêt F et agrosystème A), temps (b.).

a.		Site Semuy				Site Givry				Site Asfeld				Site Amagne					
		Semuy		BE sem		F	A	Givry		BE giv		Asfeld	BE asf		Amagne		BE ama		
		T0	T1	T0	T1	T1	T1	T0	T1										
TOC _{RE}	g/kg	22.5 ±0.4	20.4 ±1.0	18.0 ±1.1	29.1 ±7.7	53.1 ±7.5	18.9 ±0.3	14.7 ±1.2	13.9 ±0.7	21.2 ±2.0	18.8 ±0.9	20.9 ±1.7	21.6 ±0.4	28.3 ±1.7	26.0 ±1.2	24.2 ±0.4	26.3 ±1.2	25.6 ±0.4	25.1 ±1.9
F1	contribution relative des pics F1-F4 du signal S2 (%)	24.1 ±0.8	22.9 ±0.7	25.3 ±0.9	26.5 ±6.2	20.8 ±1.7	23.0 ±0.7	26.6 ±1.1	26.5 ±2.1	26.9 ±4.1	31.2 ±1.3	24.1 ±0.8	23.8 ±0.7	22.6 ±1.1	23.8 ±2.0	21.7 ±2.2	20.9 ±2.1	18.8 ±0.4	21.2 ±0.6
F2		28.6 ±1.0	28.2 ±1.6	29.7 ±0.7	26.2 ±4.0	29.7 ±0.8	30.6 ±0.6	28.4 ±1.9	29.3 ±0.5	25.1 ±0.9	23.3 ±4.5	30.2 ±0.6	29.3 ±0.1	29.4 ±1.0	28.1 ±2.5	28.5 ±0.6	26.6 ±0.8	25.9 ±2.0	27.0 ±1.3
F3		41.1 ±0.4	42.0 ±1.8	38.7 ±1.4	41.0 ±8.5	43.5 ±0.7	40.2 ±1.1	38.9 ±2.4	38.1 ±2.4	41.4 ±2.7	39.1 ±3.4	39.4 ±0.9	40.7 ±0.6	41.4 ±0.8	41.7 ±0.8	42.3 ±2.1	44.4 ±1.7	46.5 ±1.4	44.1 ±0.9
F4		6.2 ±0.1	6.9 ±0.2	6.2 ±0.2	6.3 ±0.2	6.0 ±0.7	6.1 ±0.3	6.1 ±0.4	6.1 ±0.2	6.6 ±0.7	6.4 ±0.2	6.3 ±0.2	6.3 ±0.3	6.7 ±0.2	6.3 ±0.3	7.4 ±0.7	8.1 ±0.4	8.8 ±0.2	7.7 ±0.4
R400	—	0.36 ±0.010	0.36 ±0.008	0.37 ±0.006	0.39 ±0.065	0.37 ±0.010	0.38 ±0.004	0.36 ±0.009	0.35 ±0.008	0.36 ±0.012	0.38 ±0.020	0.36 ±0.003	0.36 ±0.007	0.38 ±0.003	0.37 ±0.012	0.32 ±0.005	0.32 ±0.009	0.30 ±0.001	0.32 ±0.009
Tmax	°C	414 ±1.1	413 ±3.1	406 ±5.7	408 ±7.8	413 ±4.5	411 ±4.4	407 ±7.0	408 ±6.5	409 ±1.5	404 ±6.5	408 ±5.3	410 ±5.0	410 ±4.9	407 ±5.2	416 ±1.4	417 ±4.5	421 ±2.5	421 ±3.0
HI	mg HC /g TOC _{RE}	188 ±4.3	196 ±4.8	182 ±3.4	222 ±17.5	256 ±18.3	202 ±1.8	156 ±3.9	155 ±2.0	188 ±13.7	193 ±7.3	183 ±10.8	192 ±10.0	213 ±7.4	216 ±6.8	178 ±1.3	188 ±5.8	200 ±4.6	192 ±6.1
IO _{CO}	mg CO /g TOC _{RE}	7.2 ±0.3	6.7 ±0.2	6.9 ±0.2	6.5 ±0.3	5.5 ±0.1	5.7 ±0.5	6.5 ±0.6	7.1 ±0.5	6.9 ±0.3	7.0 ±0.3	7.1 ±0.2	7.2 ±0.3	6.1 ±0.2	6.4 ±0.3	7.3 ±0.1	7.4 ±0.1	7.0 ±0.6	7.4 ±0.03
IO _{CO2}	mg CO ₂ /g TOC _{RE}	166 ±6.5	206 ±1.4	177 ±3.0	206 ±8.1	224 ±7.2	198 ±4.9	184 ±5.2	190 ±3.6	180 ±6.7	192 ±1.7	202 ±6.2	210 ±3.6	195 ±1.7	202 ±2.0	232 ±1.4	231 ±11.6	239 ±9.3	230 ±2.8
IO _{RE6}	mg O ₂ /g TOC _{RE}	125 ±4.8	154 ±1.0	132 ±2.3	153 ±5.8	166 ±5.2	147 ±3.3	137 ±3.5	142 ±2.9	135 ±5.0	144 ±1.2	151 ±4.7	157 ±2.7	146 ±1.3	150 ±1.6	173 ±1.1	172 ±8.5	178 ±6.7	171 ±2.0

Tableau 7.3 : suite.

b.		Effet du temps			Effet du site					Effet de l'usage					
		T0	T1	p	Sem	Giv	Asf	Ama	p	TTCR-M	TTCR-J	BE	F	A	p
COT _{RE}	g/kg	B	A	<0.005	A	B	A	A	<0.05	C	B	B	A	BC	<0.0001
F1	contribution relative des pics F1-F4 du signal S2 (%)	A	A		B	A	B	C	<0.001	A	A	A	A	A	
F2		A	A		A	B	A	B	<0.05	A	A	A	A	A	
F3		A	A		B	B	B	A	<0.001	A	A	A	A	A	
F4		A	A		B	B	B	A	<0.0001	A	A	A	A	A	
R400	—	A	A		A	A	A	B	<0.0001	A	A	A	A	A	
Tmax	°C	A	A		B	B	B	A	<0.0001	A	A	A	A	A	
IH	mg HC /g COT _{RE}	B	A	<0.001	A	B	A	A	<0.05	C	BC	B	A	B	<0.001
IO _{CO}	mg CO /g COT _{RE}	A	A		C	AB	BC	A	<0.05	AB	A	B	C	C	<0.001
IO _{CO2}	mg CO ₂ /g COT _{RE}	B	A	<0.001	C	D	B	A	<0.05	B	A	A	A	AB	<0.05
IO _{RE6}	mg O ₂ /g COT _{RE}	B	A	<0.01	C	D	B	A	<0.05	B	A	A	A	AB	<0.05

Le site d'Amagne et la parcelle de forêt présentent les IO les plus élevés. L'indice hydrogène est le plus élevé dans la parcelle de forêt. Dans les sites d'Amagne, Asfeld et Givry, l'IH des TTCR est inférieur à celui des bandes enherbées. A Semuy, le TTCR et la bande enherbée indiquent des IH similaires (figure 7.6). Concernant les indices oxygène IO_{CO_2} et IO_{RE6} , ils étaient inférieurs sur les parcelles de TTCR plantées sur des cultures de maïs par rapport aux TTCR plantés sur jachère, aux bandes enherbées ou à la parcelle de forêt. A l'inverse, l' IO_{CO} présentait des valeurs plus élevées dans les TTCR que dans les bandes enherbées ou dans les parcelles de forêt et l'agrosystème (tableau 7.3). Les diagrammes de type van Krevelen de la figure 7.6 soulignent bien que les MO du sol de la forêt possèdent plus de composés aliphatiques (-HCH). Ces diagrammes font bien apparaître un effet site, un effet occupation des sols et une distinction BE vs TTCR.

III.5. Corrélation entre les approches de caractérisations biologiques, chimiques et physiques des MO.

Différents paramètres issus des trois approches de caractérisation des pools de matières organiques du sol sont significativement corrélés (tableau 7.4). La proportion de carbone labile est significativement corrélée à la contribution F1 du signal S2 de la pyrolyse RE. A l'inverse, elle est anti-corrélée aux contributions F3 ou F3+F4 qui correspondent à des fractions plus stables. Parallèlement, le carbone labile est également corrélé aux proportions de composés phénoliques, sucres réducteurs et polysaccharides totaux rapportés au carbone organique total. En conséquence, ces composés organiques sont également corrélés positivement à F1 et anticorrélés F3 ou F3+F4.

Tableau 7.4 : Matrice de corrélation de Pearson entre le C_{org} stable (proportion de C_{org} résistant à l'acide / C_{org} initial), C_{labile} (proportion de C_{org} extrait à l'eau chaude / C_{org} initial), les pourcentages des courbes F1 à F4, le taux de minéralisation du carbone (TMC), la respiration basale du sol (RB), le carbone organique total mesuré par pyrolyse RE (COT_{RE}), la quantité de C_{org} extraite à l'eau chaude : C_{org} hydrosoluble (C_{orgH}), les proportions de composés phénoliques (CP), polysaccharides totaux (PST) et sucres réducteurs (SRed) exprimés par rapport à la quantité de carbone organique total, la nitrification basale (NB), les indices hydrogène (IH) et oxygène (IO_{RE6}). Les données utilisées pour cette matrice sont celles correspondant à l'automne 2010 (T1). Les valeurs en italique correspondent au p-values avec ** <0.0001 et *** <0.001.**

Variabes	C _{stable}	F1	F2	F3	F3+F4	TMC	RB	COT _{RE}	C/N	C _{orgH}	CP	PST	SRed	NB	IH	IO _{RE6}
C _{labile}	-0.88 ****	0.55 <i>0.029</i>	-0.24 <i>0.380</i>	-0.58 <i>0.019</i>	-0.54 <i>0.030</i>	0.17 <i>0.54</i>	-0.85 ****	-0.91 ****	-0.83 ****	-0.90 ****	0.71 <i>0.002</i>	0.81 ***	0.67 <i>0.005</i>	-0.86 ****	-0.89 ****	-0.85 ****
C _{stable}		-0.61 <i>0.011</i>	0.36 <i>0.174</i>	0.43 <i>0.095</i>	0.37 <i>0.157</i>	-0.06 <i>0.839</i>	0.90 ****	0.92 ****	0.90 ****	0.96 ****	-0.67 <i>0.004</i>	-0.72 <i>0.002</i>	-0.50 <i>0.051</i>	0.89 ****	0.83 ****	0.86 ****
F1			-0.46 <i>0.072</i>	-0.44 <i>0.086</i>	-0.43 <i>0.095</i>	0.32 <i>0.221</i>	-0.46 <i>0.075</i>	-0.54 <i>0.032</i>	-0.43 <i>0.099</i>	-0.56 <i>0.023</i>	0.83 ****	0.82 ****	0.65 <i>0.007</i>	-0.55 <i>0.027</i>	-0.55 <i>0.028</i>	-0.64 <i>0.007</i>
F2				-0.43 <i>0.098</i>	-0.43 <i>0.094</i>	-0.67 <i>0.004</i>	0.05 <i>0.866</i>	0.27 <i>0.310</i>	0.25 <i>0.345</i>	0.33 <i>0.208</i>	-0.32 <i>0.220</i>	-0.29 <i>0.279</i>	-0.16 <i>0.564</i>	0.32 <i>0.226</i>	0.15 <i>0.584</i>	0.38 <i>0.141</i>
F3					0.99 ****	0.24 <i>0.364</i>	0.58 <i>0.018</i>	0.49 <i>0.054</i>	0.39 <i>0.137</i>	0.44 <i>0.090</i>	-0.60 <i>0.014</i>	-0.66 <i>0.006</i>	-0.67 <i>0.004</i>	0.40 <i>0.124</i>	0.63 <i>0.009</i>	0.53 <i>0.035</i>
F3+F4						0.23 <i>0.382</i>	0.53 <i>0.033</i>	0.45 <i>0.081</i>	0.32 <i>0.231</i>	0.39 <i>0.141</i>	-0.57 <i>0.021</i>	-0.64 <i>0.008</i>	-0.66 <i>0.005</i>	0.36 <i>0.167</i>	0.60 <i>0.013</i>	0.48 <i>0.059</i>
TMC							0.27 <i>0.311</i>	-0.05 <i>0.854</i>	-0.09 <i>0.734</i>	-0.08 <i>0.775</i>	0.35 <i>0.180</i>	0.37 <i>0.157</i>	0.27 <i>0.310</i>	-0.09 <i>0.744</i>	-0.14 <i>0.606</i>	-0.17 <i>0.533</i>
RB								0.94 ****	0.85 ****	0.93 ****	-0.57 <i>0.022</i>	-0.62 <i>0.010</i>	-0.49 <i>0.056</i>	0.89 ****	0.83 ****	0.79 ***
COT _{RE}									0.91 ****	0.99 ****	-0.68 <i>0.004</i>	-0.74 <i>0.001</i>	-0.56 <i>0.023</i>	0.97 ****	0.92 ****	0.84 ****
C/N										0.93 ****	-0.55 <i>0.028</i>	-0.68 <i>0.004</i>	-0.40 <i>0.126</i>	0.92 ****	0.85 ****	0.71 <i>0.002</i>
C _{orgH}											-0.67 <i>0.005</i>	-0.73 <i>0.001</i>	-0.53 <i>0.036</i>	0.95 ****	0.88 ****	0.86 ****
CP												0.90 ****	0.86 ****	-0.63 <i>0.010</i>	-0.77 ***	-0.80 ***
PST													0.81 ***	-0.72 <i>0.002</i>	-0.84 ****	-0.75 <i>0.001</i>
SRed														-0.50 <i>0.047</i>	-0.74 <i>0.001</i>	-0.76 <i>0.001</i>
NB															0.89 ****	0.74 <i>0.001</i>
IH																0.80 ***

Le taux de minéralisation du carbone n'est corrélé à aucun paramètre : nous pouvons noter une anti-corrélation significative avec la contribution F2 au signal S2 de la pyrolyse hydrosoluble au cours de l'incubation (§ III.2). La respiration basale, la nitrification basale, le carbone organique total, le carbone hydrosoluble, l'indice hydrogène et l'indice oxygène (IO_{RE6}) sont corrélés avec $r > 0.7$ et $p < 0.01$.

IV. Discussion

IV.1. Impact quantitatif des TTCR sur les matières organiques du sol

L'impact des TTCR sur les concentrations en matières organiques est variable selon les parcelles et ne permet pas de conclure sur un effet quantitatif à court terme. L'augmentation de MO dans le sol du TTCR de Semuy a été confirmée au cours du prélèvement suivant (chapitre 4). A Amagne, le faible impact des TTCR peut s'expliquer par le rendement très faible et une strate enherbée sous les saules bien développée. Entre l'automne 2010 et le printemps 2012, en considérant les sites de Semuy, Givry et Asfeld, les concentrations en matière organique des TTCR sont inférieures à celles des bandes enherbées ou de la forêt et sont équivalentes à la concentration mesurée dans le sol de l'agrosystème (chapitre 6). La durée à partir de laquelle la culture de biomasse ligneuse devient un puits de carbone est en moyenne de 10 ans quand les TTCR sont implantés sur des cultures annuelles (Post and Kwon 2000, Sartori et al. 2006, Baum et al. 2009, Nair et al. 2009, Lockwell et al. 2012, Rytter 2012). Cette durée est encore plus importante (> 20 ans) si les TTCR sont implantés sur des jachères de longue date (c'est le cas ici pour Amagne et Asfeld en jachère depuis 1992) ou sur des prairies (Amichev et al. 2012). Seule la parcelle de TTCR de Semuy semble, après 4.5 années de plantation, être dans une phase d'accumulation de carbone organique par rapport à l'agrosystème. Les CEC de toutes les parcelles de TTCR sont supérieures à celle mesurée dans l'agrosystème. Les teneurs en matières organiques et leurs

variations quantitatives entre les quatre usages du sol sont bien corrélées au taux de minéralisation, à la nitrification basale et aux teneurs en carbone organique hydrosoluble ($r > 0.9$).

IV.2. Évolution des pools stables et labiles des matières organiques dans les TTCR de Semuy et Givry après 4.5 ans de plantation.

La pyrolyse Rock Eval par « cracking des MO entre 300 et 650°C » permet de déterminer des fractions plus ou moins thermo-stables issues de la déconvolution du pic S2 en quatre courbes F1, F2, F3, F4. Ces fractions correspondent à différents types de composants organiques. Selon les études de Disnar et al. (2003) et Sebag et al. (2006) la première courbe F1, en général peu fréquente, dont le maximum est situé entre 300 et 320°C, correspond à des constituants biologiques thermo-labiles (MO fraîches, litières, sucres simples). La seconde courbe F2, avec un maximum entre 360 et 370°C, souvent présente dans des analyses de litières (OL et OF), caractérise des composés comme la cellulose et/ou la lignine, ou d'autres polymères comme les polypeptides. La pyrolyse de ces composants biologiques s'achève vers 400°C alors que celle des « substances humiques » se manifeste à 420°C et forme les courbes F3 et F4 dont les pics se situent entre 430-440°C et 460-500°C (correspondant aux MO d'horizons A et B). Dans notre étude, le signal S2 est décalé vers des températures plus élevées : les moyennes des températures maximales sur l'ensemble des échantillons sont les suivantes 340, 407, 472 et 570 pour les quatre courbes (F1-F4). Ce décalage sera discuté au paragraphe IV.4 ci-dessous. Le craquage de la matière organique aux températures supérieures à 400°C (courbes F2 à F4 de notre étude, tableau 7.3) correspond aux liaisons C-C et C-argiles observées en pyrolyse GC-MS (Schulten and Leinweber 1996). Les courbes F2 à F4 seraient donc formées par craquage des MO adsorbées ou liées par des liaisons covalentes aux minéraux. Cette stabilisation augmente le temps de résidence des composés

organiques (Wickings et al. 2012). Les plantations de TTCR situées à Semuy et Givry ne modifient pas significativement le pourcentage du pool de carbone organique stable estimé soit par résistance à une attaque acide ou soit par pyrolyse RE. Il n'y a pas d'effet significatif de l'usage du sol (TTCR) sur les contributions relatives des courbes F3 ou F4 au signal S2. De plus, le pool stable (résistant à l'attaque acide) représente une forte proportion du carbone total qui ne pourra donc être impacté que par des modifications d'usages du sol sur de plus longues durées (Franzluebbers et al. 1994, Lal 2006). Les études réalisées sur le pool stable des MO, estimé par fractionnement physique sous des TTCR ne montrent pas d'impact après 4 ans de plantation de saules (Ulzen-Appiah et al. 2001). Il n'y a pas de corrélation significative entre le pool stable estimé par pyrolyse RE avec celui estimé par hydrolyse acide. Ce pool stable est difficile à mesurer et les résultats obtenus avec les diverses méthodes mises en œuvre actuellement ne sont pas toujours comparables (Greenfield et al. 2013).

La proportion de carbone labile est plus élevée dans les TTCR que dans leurs bandes enherbées respectives. Le carbone organique labile inclut la matière organique hydrosoluble mais également une partie de la biomasse microbienne qui peut représenter jusque 40 % du carbone extrait à l'eau chaude (Balaria et al. 2009). Les TTCR, comparés aux cultures agricoles classiques, favorisent le développement de la biomasse microbienne totale (Makeschin 1994, Mao and Zeng 2010, Pellegrino et al. 2011). L'augmentation de la proportion de carbone labile pourrait être liée à une augmentation de la biomasse microbienne (Sparling et al. 1998) notamment fongique dans l'horizon de surface (Lockwell et al. 2012). Les plus fortes densités fongiques observées dans les quatre parcelles de TTCR (chapitre 5) soutiennent cette hypothèse. La quantité de carbone hydrosoluble extraite des échantillons est significativement corrélée avec la minéralisation du carbone et la nitrification basale. Ces corrélations sont fréquemment observées dans d'autres types d'études (Janzen et al. 1992, Haynes 2005, Giacometti et al. 2013). La diminution de carbone hydrosoluble pendant

l'incubation est corrélée au taux de minéralisation et correspond à la quantité minéralisée. Par conséquent, la quantité de carbone hydrosoluble peut être un proxy de la matière organique biodisponible et biodégradable comme le propose une étude de (Ghani et al. 2003). La proportion la plus faible de carbone labile s'observe dans le sol de la parcelle de forêt dont la MO présente un fort indice d'hydrogène. L'agrosystème a une proportion supérieure de substances labiles par rapport au TTCR de Semuy mais inférieure à celle du TTCR de Givry. Les proportions de MO labile, dans les sols avec de la végétation permanente, sont connues pour être très variables (15% à 40%) en fonction de l'usage, du type de végétation et de divers facteurs écologiques (température, présence de polluants...) (Christensen 2001). Elles s'échelonnent entre 17 et 35% dans les parcelles étudiées. La proportion de 30% dans l'agrosystème est surprenante car le pool labile est généralement inférieur à 10% dans l'horizon labouré des sols cultivés (Christensen 2001). Cependant des valeurs d'environ 30% ont déjà été mesurées (Larionova et al. 2011). La proportion de carbone labile est significativement corrélée à l'amplitude de la courbe F1. Les différences d'usages du sol ne s'observent pas sur les matières organiques les plus thermolabiles mesurées en pyrolyse RE (signal S1).

Ces résultats confirment le caractère « sentinelle » du carbone organique hydrosoluble qui renseigne sur les modifications rapides des propriétés des matières organiques du sol suite à un changement d'usage (Bending et al. 2000). Il constitue également un indicateur de qualité des sols pour évaluer le service de productivité (apport direct par lixiviation ou indirect après minéralisation d'éléments nutritifs pour les organismes et d'énergie pour les microorganismes et les micro et mésofaunes du sol)(Gregorich et al. 1994, Haynes 2005, Lal 2006).

IV.3. Impact des TTCR sur la qualité des matières organiques du sol.

Les TTCR apportent dans leur pool labile de relativement grandes quantités de polysaccharides en particulier pour le site de Givry où l'on note une forte biodégradation et une faible teneur des sols en MO. La forêt a un apport important mais en fait relativement faible par rapport à sa teneur en MO. De la même manière, les indicateurs biologiques tels que le taux de minéralisation ou la respiration basale sont des proxys de la biodégradabilité des MO « les plus labiles », précisément celles qui ne sont pas protégées physiquement et/ou chimiquement de la biodégradation (Leinweber et al. 2008, Schmidt et al. 2011). Les résultats indiquent une très forte minéralisation et une nitrification basale importante dans le sol de la parcelle de forêt par rapport aux autres sols. Cependant, la biodégradabilité de la matière organique n'est pas plus élevée en forêt. Le taux de minéralisation du carbone à Givry est équivalent à celui de la bande enherbée du même site mais supérieur à celui de la parcelle de forêt, et au TTCR de Semuy. Le taux de minéralisation sous les taillis est compris entre celui de l'agrosystème et celui de la forêt. Ces résultats rejoignent ceux sur les pools de carbone des sols des parcelles de TTCR qui ont une proportion de carbone labile supérieure à celle de leurs bandes enherbées respectives. La biodégradation de polysaccharides totaux, sucres réducteurs et composés phénoliques est bien plus importante dans les TTCR que dans l'agrosystème où le taux de minéralisation est faible. Le sol sous l'agrosystème favoriserait la libération de composés phénoliques alors qu'ils seraient plus dégradables sous les TTCR et les bandes enherbées. La capacité des TTCR à favoriser la biodégradation des composés récalcitrants a été démontrée dans les chapitres précédents (3, 4 et 6) où les sols de TTCR indiquaient une activité laccase équivalente à celle sous les bandes enherbées et supérieure à l'activité laccase du sol de l'agrosystème (chapitre 6). Le C/N bas dans les TTCR peut également expliquer les taux de minéralisation relativement élevés. Le C/N des parcelles de saules augmente au cours du temps (cf. données tableau 6.2, chapitre 6) et des rapports C/N

élevés caractérisent les TTCR de saules et de peupliers sur le long terme (Kahle et al. 2007). Ces fortes biodégradabilités et minéralisations initiales dans les sols des TTCR pourraient être ralenties par une évolution des MO vers des formes plus récalcitrantes. De fortes proportions de subérines, stérols, acides gras à longues chaînes qui caractérisent la MO dans les sols sous les plantations de TTCR de peupliers (Baum et al. 2013) pourraient ralentir la minéralisation. La disponibilité de l'azote diminue au cours du temps et la stabilité de la matière organique augmente dans des TTCR de trembles, peupliers ou saules (Jug et al. 1999, Post and Kwon 2000, Baum et al. 2013).

La quantité d'azote minéral total augmente au cours des incubations destinées à étudier la minéralisation potentielle de C et N (figure 7.2.A), avec une bonne corrélation entre NH_4^+ présent initialement dans les sols et le CO_2 dégagé ($r>0.7$ avec $p<0.001$) et également une bonne corrélation entre la minéralisation de C et la nitrification basale. Ces résultats indiquent une bonne relation entre la minéralisation du carbone et de l'azote dans l'ensemble des sols.

Les paramètres qualitatifs des matières organiques obtenus par pyrolyse Rock Eval permettent également de distinguer les usages du sol bien que les analyses aient été réalisées sans fractionnement granulométrique préalable. Les TTCR ont des valeurs d'IH situées autour de 155 à 196 $\text{mgHC/gCOT}_{\text{RE}}$, les bandes enherbées et l'agrosystème autour de 182 à 216, et la forêt à 256 $\text{mgHC/gCOT}_{\text{RE}}$. Les IH des litières forestières, en climat tempéré, atteignent 300 à 400 $\text{mgHC/gCOT}_{\text{RE}}$ (Sebag et al. 2006). Des valeurs de IH inférieures à 200 mg de $\text{HC/gCOT}_{\text{RE}}$ pourraient donc révéler une MO mature (Soto 2009). L'IH est peu dépendant du site sauf Givry qui a un indice plus faible qui pourrait être associé au taux de minéralisation plus élevé (Soto 2009). Par conséquent, malgré la relativement bonne minéralisation dans les sols de TTCR, les IH bas semblent révéler une matière organique dégradée avec une proportion importante de composés phénoliques, de structures déshydrogénées (Carrie et al. 2012). L' IO_{RE6} est plus difficile à relier à la maturité de la MO. Certains auteurs considèrent

une faible oxydation pendant la maturation alors que d'autres indiquent des réactions de désoxydation pendant la maturation de la matière organique du sol (Saenger et al. 2013).

IV.4. Comparaison des différentes approches de caractérisation des MO : le fractionnement chimique, la biodégradation et minéralisation et la pyrolyse Rock-Eval (RE)

Les corrélations positives et significatives entre la biodégradation des MO, la fraction hydrosoluble à chaud, l'Indice Hydrogène ou encore entre la fraction de carbone labile et la contribution du pic F1 au signal S2 de l'analyse RE permettent de valider l'estimation du pool labile de carbone organique pour les quatre usages du sol étudiés. Ces résultats permettent de proposer ce pool labile en tant que paramètre d'évaluation de la qualité des sols. Les trois méthodes utilisées pour la caractérisation des MO, relativement simples et qui peuvent être bien calibrées, présentent des avantages et limites qui doivent être soulignés.

La pyrolyse Rock Eval permet une estimation relativement efficace du carbone organique total. La sous estimation des teneurs en MO comparativement à la méthode par combustion (NF ISO) est probablement due à des mécanismes de condensation pendant la pyrolyse. La stabilité des MOS vis-à-vis du traitement thermique peut être utilisée comme une évaluation globale de leur stabilité biogéochimique et donc de leur persistance dans les écosystèmes (Plante et al. 2009). La pyrolyse RE est libérée des signaux d'interférences avec la matrice minérale (craquage des argiles et autres minéraux). La déshydratation des argiles s'opère entre 400 et 600°C mais la perte d'atomes ne commence qu'aux environs de 650°C. Comme il n'y a pas de liaison C-H dans les argiles et que le pyrogramme S2 ne mesure que les liaisons C-H, le risque de biais provenant du craquage des argiles est limité. Les carbonates, en revanche, se désagrègent à basse température en fonction de l'état physique et cristallographique, mais de fortes teneurs en MO limitent ce risque (Noël 2001). Dans les échantillons analysés, les plus

fortes valeurs d'IO ont été observées dans les deux sols les moins carbonatés et à plus forte teneur en MO (site d'Amagne et parcelle de forêt).

Les paramètres F3, F4, R400 et Tmax discriminent très bien le site d'Amagne qui présente la plus forte teneur en MO des parcelles de TTCR, les contributions les plus élevées des pics F3 et F4 du signal S2, T°max la plus haute et par conséquent le R400 le plus faible, par rapport aux autres sites. Ces valeurs sont indicatrices de quantités plus importantes de MO stables. Ce site d'Amagne présente les plus fortes teneurs en argile (70% vs. 50% pour les autres sols). Les très fortes teneurs en argile des sols étudiés pourraient expliquer le décalage du signal S2 par rapport aux températures observées dans la littérature comme souligné au début du paragraphe IV.2. L'argile granulométrique et minéralogique est reconnue pour offrir une protection thermique à la matière organique dans les sols (Plante et al. 2009). Le même composé avec ou sans argile n'a pas la même température de craquage, et l'étude de Faure et al. (2006) démontre que l'argile a un effet catalytique sur les MO. Cet effet pourrait être un artefact de la méthode thermique, rencontré aux très fortes températures. Cette protection ne serait pas aussi significative *in situ* car les oxygènes des fonctions acides, cétones et alcools réagissent mieux et plus avec les argiles avec l'augmentation de la température.

Les températures d'intégration des signaux ne sont pas exactement les mêmes et varient selon les types d'échantillons et le nombre de pics issus de la déconvolution peut aller jusque 6 (F6) (Disnar et al. 2003). Il serait donc souhaitable d'intégrer le signal S2 en fonction d'étalons internes définissant des bornes de températures avec des composés purs bien définis. Toutefois la déconvolution du signal S2 permet de prendre en compte les décalages du signal vers des températures plus fortes ou plus basses en fonction de la minéralogie.

L'estimation du pool labile par une extraction à l'eau chaude est largement utilisée et s'avère efficace pour estimer la quantité de matière organique biodisponible, ou même pourrait être un proxy de la biomasse microbienne (Ghani et al. 2003, Balaria et al. 2009). En revanche

L'estimation du pool stable par la phase non extractible par une hydrolyse acide forte est plus controversée (Zimmermann et al. 2007, Greenfield et al. 2013) bien qu'elle soit fréquemment utilisée (Plante et al. 2006, Rovira et al. 2012). L'isolation du pool stable par hydrolyse acide est fondée sur le postulat que les molécules organiques résistantes à l'acide sont aussi résistantes aux enzymes du sol ce qui leur conférerait une bonne stabilité biologique avec des longs temps de résidence (Krull et al. 2006). Cependant, l'hydrolyse acide d'hydrates de carbone, par exemple, peut produire des molécules volatiles, solubles mais aussi insolubles telles que des dérivés furaniques qui peuvent polymériser en milieu acide. Par conséquent la fraction résistante isolée par hydrolyse acide pourrait inclure des quantités significatives de carbone végétal frais issu de la litière (Wang and Hsieh 2002, Paul et al. 2006, Greenfield et al. 2013). Le fractionnement chimique a été réalisé sur des échantillons séparés (d'une part extraction à l'eau chaude et d'autre part résidus d'extraction acide forte) alors qu'il serait préférable de réaliser ces extractions de façon séquentielle avec l'extraction à l'eau chaude suivie de l'extraction en conditions acide fort pour obtenir un meilleur bilan. Il est en effet surprenant que la somme du carbone soluble à l'eau chaude avec le carbone organique résistant à l'acide représente de 79 à 92% du carbone organique total signifiant que le carbone organique acido-soluble ne représenterait que 8 à 21% du carbone initial. Le carbone organique total de l'échantillon peut être sous estimé dans des sols carbonatés. En effet, la méthode par combustion NF ISO consiste à décarbonater l'échantillon par traitement HCl avant le dosage du carbone organique. Ce traitement peut conduire à une perte de matière organique acidosoluble et par conséquent à une sous estimation des valeurs.

La méthode d'incubation est plus longue que les deux autres. Par ailleurs, la nitrification dans ce dispositif peut engendrer une acidification et par conséquence une émission de CO₂ après dissolution des carbonates.

V. Conclusion

La minéralisation des MOS déterminée dans des dispositifs d'incubation en conditions contrôlées, les extractions à l'eau chaude et la résistance à l'hydrolyse acide ainsi que la pyrolyse Rock-Eval montrent des différences qualitatives et quantitatives concernant les MOS sous des parcelles de TTCR plus prononcées pour les parcelles âgées de 4.5 ans après une première récolte de saules que celles de 2.5 ans. La pyrolyse RE montre également ces différences sur des parcelles plus jeunes (2.5 ans) n'ayant pas subi de récolte (indice d'hydrogène IH et pic F1 du signal S2). Une des quatre parcelles (Semuy) semble être un potentiel puits de carbone après 4.5 années de plantation. La bonne biodégradation des MO dans les TTCR s'explique par un C/N resté bas à court terme mais qui tend à augmenter avec le temps et des proportions plus importantes de carbone labile par rapport aux bandes enherbées voisines. Par ailleurs sur l'ensemble de la matière organique des sols étudiés, les indices hydrogène et oxygène soulignent une matière organique évoluée riche en composés récalcitrants (e.g composés aromatiques et/ou hydrocarbures stables) et pouvant expliquer les fortes activités laccase et la forte densité fongique observées dans les parcelles de saules (chapitres 3, 4, 6). Sur le long terme, la densité apparente du sol diminuerait dans les TTCR (Kahle et al. 2005, Kahle et al. 2007, Mao and Zeng 2010). Il serait donc essentiel de calculer les stocks de matières organiques plutôt que les concentrations et de mieux définir les impacts sur le carbone organique labile, l'indice d'hydrogène et le pic F1 du signal S2. A court terme, les TTCR ne semblent pas impacter le pool stable de carbone.

Des indices de qualité des sols liés aux matières organiques tels que le carbone organique hydrosoluble, l'indice hydrogène et l'évolution du signal S2 pourraient être proposés pour le suivi de sites dédiés aux cultures de biomasse ligneuse à courtes rotations. Au delà il semblerait intéressant d'évaluer la biodégradabilité des MO et les taux de dégradations de

composés tels que les polysaccharides totaux ou la courbe F1 du signal de pyrolyse S2 pour calculer un indice de qualité des sols lié au service de productivité végétale comme proposé par Gregorich et al. (1994) et Blecker et al. (2013) et dans le cas présent en contexte de changement d'usage récent.

Chapitre 8. Distribution du carbone et des éléments nutritifs après plantation de TTCR de saules dans l'écosystème sol-plante.

Résumé

Dans le chapitre 7, la biodégradabilité de la matière organique au sein des TTCR et le potentiel puits de carbone dans le TTCR de Semuy ont été montrés. Par ailleurs, même si l'IQS de fertilité n'a pas diminué dans le TTCR par rapport à l'agrosystème (chapitre 4), le chapitre 7 souligne une diminution de l'azote total et de la matière organique dans les parcelles de Givry et d'Asfeld par rapport à leurs précédents culturaux. Pour évaluer l'impact des TTCR sur le sol au cours du temps et des rotations successives, il est ainsi nécessaire de prendre en compte le flux d'éléments nutritifs dans ces agrosystèmes et d'effectuer un bilan.

Dans cette dernière partie nous nous plaçons à l'échelle de l'écosystème sol-plante et en considérant le cycle biologique du carbone et des éléments nutritifs (Ca, N, P, K, Mg, Na). La répartition du carbone et des éléments a été estimée dans l'horizon Ap et dans la biomasse de saules des parcelles de TTCR de Semuy, Givry et Asfeld. Les flux de carbone et d'éléments internes à l'écosystème (prélèvements par la biomasse de saules et herbacée et retours au sol) ont été estimés en utilisant la production moyenne de l'année 2011. Les intrants (apports atmosphériques, apports latéraux...) et les sorties par drainage, lixiviation et pertes diverses n'ont pas été considérés, hormis le prélèvement par les récoltes.

Ce bilan montre que les forts prélèvements moyens annuels dans les trois parcelles sont tamponnés par des retours aux sols élevés notamment sur les parcelles de Semuy et Givry où une strate herbacée importante s'est développée sous les saules constituant un puits d'éléments nutritifs qui retourne au sol. Néanmoins, sur les trois parcelles étudiées dans ce chapitre, les concentrations en phosphore disponible et potassium échangeable ont diminué par rapport aux sols initiaux. L'azote et le carbone peuvent aussi présenter des bilans défavorables, excepté sur le site de Semuy qui semble constituer un puits de carbone. Une étude plus complète prenant en compte le profil de sol et des durées de culture plus longues

est à mettre en œuvre pour vérifier et valider les évolutions des paramètres caractérisant les cycles en particulier du carbone.

I. Introduction

La consommation de produits issus de la forêt est corrélée avec l'augmentation de la population mondiale qui a évolué de 5.3 à 7.2 milliards d'individus entre 1990 et 2013 (United Nations 2013) mais aussi à son mieux-être. Parallèlement, la surface forestière mondiale est passée de 4.2 milliards d'hectares en 1990 à moins de 4 milliards aujourd'hui (FAO 2010). Dans ces conditions, le développement d'une production de bois issue des plantations à croissance rapide, afin de répondre à la demande en fibres ligneuses et en bois énergie, apparaît comme une alternative intéressante pour protéger les forêts natives dont les services sont nombreux et pour certains d'entre eux peu connus (Fox 2000).

Les essences à croissance rapide (e.g eucalyptus, peuplier, robinier, saule) et les plantations gérées de manière intensive avec des rotations courtes (3 à 6 ans) assurent de bons rendements mais augmentent les quantités d'éléments exportés à la récolte (Adegbidi et al. 2001). Les conséquences des coupes à blanc sur les sols ont été étudiées dans les écosystèmes forestiers où l'intensification de la sylviculture (substitution des essences natives par des essences plus productives, diminution des durées des révolutions, exportation des rémanents) a conduit à une acidification des sols et à une diminution de leur fertilité minérale (Ranger 2003). Dans les TTCR, le cycle des éléments est majoritairement étudié en contexte pluri-fonctionnel (production de biomasse et traitement d'eaux usées ou recyclage de déchets) avec application des boues résiduaire ou de divers amendements (Adegbidi et al. 2003, Dimitriou and Aronsson 2011, McCormack et al. 2013). Néanmoins, quelques études concernent des parcelles non fertilisées où les impacts les plus forts, sur le bilan nutritif, apparaissent sur sols acides (Ledin, 1998, Ens et al. 2013). D'autre part, les pertes par lixiviation dans les eaux de

percolation peuvent être importantes aux stades jeunes des plantations, en hiver et après les récoltes tandis que les quantités perdues sont infimes pendant la saison de croissance et concernent en particulier N et K (Mortensen et al. 1998, Jug et al. 1999, Meiresonne et al. 2007). La multiplicité des paramètres conditionnant les cycles biogéochimiques dans les TTCR de saules (génotype, durée des rotations, densité de plantation) et certains résultats contradictoires modulent les possibilités de conclure sur l'efficacité des cycles de ce système (chapitre 1 § II.2.1). Des données supplémentaires sont nécessaires pour préciser les bilans et estimer les pertes des nutriments en fonction du type de sol et des réserves minérales. Nous avons constaté dans ce travail que les changements d'apports et le recyclage actif de la matière organique, entraînent des changements dans la structure, la diversité et l'activité des communautés microbiennes et lombriciennes, et contribuent à entretenir la fertilité du sol (chapitres 4 et 5). Toutefois, des bilans entrées-sorties d'éléments nutritifs dans les sols s'imposent car ce sont des indicateurs fiables permettant d'évaluer l'influence de pratiques sylvicoles sur l'évolution de la fertilité des sols forestiers (Ranger and Turpault 1999, Laclau 2012).

L'objectif de ce chapitre est de quantifier les flux de carbone et d'éléments nutritifs et les stocks des compartiments internes des TTCR de saules qui sont passés de systèmes agricoles recevant des amendements réguliers à un système sol-plante pérenne sans fertilisation. Les flux de carbone et d'éléments internes à l'écosystème (prélèvements par la biomasse de saules et herbacée et retours au sol) ont été estimés en utilisant la production moyenne de l'année 2011. Pour cela, des pièges à litières ont été mis en place, des coupes de strates herbacées ont été réalisées suivies des analyses des éléments minéraux dans les litières et dans les végétaux récoltés. Les productions de bois ont été mesurées et les plaquettes issues de cette récolte des TTCR analysées. Ces données et analyses ont été associées à des valeurs estimées (pour les racines) d'après les données de la littérature pour aboutir à un bilan du carbone et des

nutriments dans ces TTCR. Les intrants (apports atmosphériques, apports latéraux...) et les sorties par drainage, lixiviation et pertes diverses n'ont pas été considérés, hormis le prélèvement par les récoltes.

II. Matériel et méthodes

Les trois parcelles de TTCR situées à Givry, Semuy et Asfeld ont été utilisées pour cette étude. Les flux et les stocks calculés ou estimés sont rappelés dans la figure 8.1. Les calculs effectués sont présentés au paragraphe II.5.4 du chapitre 2. La description des récoltes de litières, de strates herbacées et de plaquettes est fournie dans le chapitre 2, au paragraphe II.5.1. La minéralisation et le dosage des éléments minéraux des végétaux sont décrits au paragraphe II.5.2. Les calculs de densité apparente du sol et des stocks de carbone sont présentés au paragraphe II.5.3.

Les densités de plants par hectare ont été estimées par Nicolas Marron (INRA Champenoux, UMR Ecologie, Ecophysiologie Forestière). Le nombre de souches de saules a été compté sur deux doubles lignes (4,5 mètres) sur 40 mètres de long, soit sur 180m². L'opération a été répétée 6 fois sur les parcelles de TTCR.

Les sols ont été prélevés sur leurs 10 premiers cm et les densités apparentes ont été estimées sur cette même profondeur. Le bilan carbone a été estimé sur cette profondeur ce qui entraîne une simplification et un biais dans l'établissement d'un bilan et le suivi de l'évolution des stocks. L'évolution des concentrations en éléments (N, P, K, Mg) dans les sols de parcelles de TTCR de T1 (automne 2010) à T4 (printemps 2012) est comparée à celle dans les sols de références, correspondant aux précédents culturaux des parcelles et considérés comme sols initiaux. La bande enherbée d'Asfeld est un résidu de la jachère sur laquelle le taillis a été planté. L'agrosystème situé sur le site de Semuy est également utilisé comme référence pour

Givry, car aucune surface de l'agrosystème initial n'a été sauvegardée en culture annuelle sur ce site.

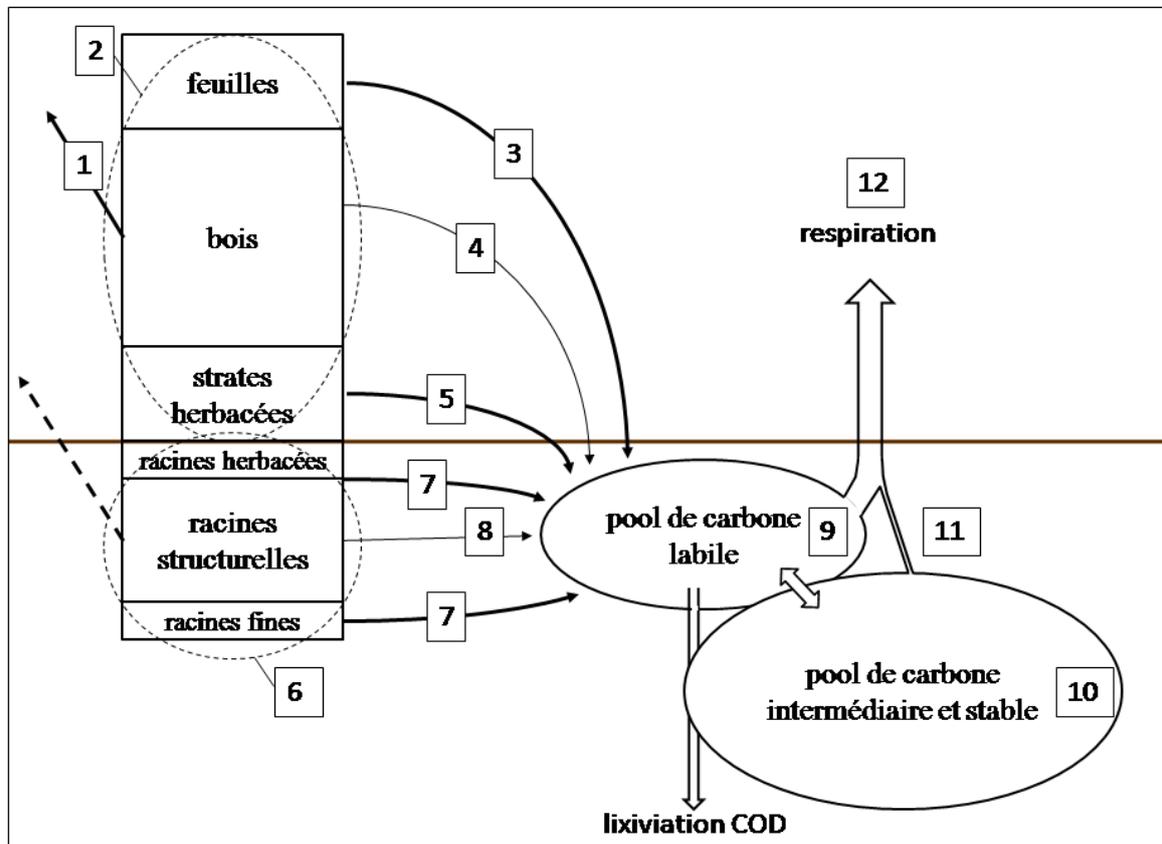


Figure 8.1: Retour au sol et exportation de carbone et d'éléments nutritifs dans le système TTCR : 1 exportation par les récoltes, 2 biomasse aérienne totale et 6 biomasse racinaire estimée, 3 retombées de litières de saule, 4 apport d'éléments ligneux par mortalité de plants, 5 retour au sol de matière organique herbacée, 7 apport de matière organique par turn over des racines fines, 8 apport par mortalité des racines structurales, 9 proportion de carbone labile, 10 proportion de carbone intermédiaire et stable ($100-C_L$), 11 stock de carbone ou des différents éléments sur les 10 premiers cm du sol, 12 respiration potentielle.

Les pièges à litières ont été déposés sur les parcelles du printemps à l'hiver 2011 uniquement.

Les seules données disponibles dans la littérature sur l'évolution de la matière sèche, en fonction de l'âge des taillis indiquent une évolution non linéaire, 1,2 ; 7,6 et 8,7 $t_{MS}/ha/an$ respectivement la première, deuxième et quatrième année (Gavaland 1998). Les retombées de litières sont proportionnelles à la production primaire et le rapport bois sur feuille est insensible à la fertilisation (Cannell 1989, Guo et al. 2006). En conséquence, l'estimation du bilan nutritif n'est pas réalisable sur le cycle de trois ans des parcelles étudiées. Le bilan a donc été réalisé sur les données de l'année 2011, avec des plantations allant jusqu'à la

deuxième récolte pour Semuy et Givry et à la première récolte pour Asfeld. La production moyenne de l'année 2011 a alors été estimée par approximation en divisant par trois la biomasse récoltée après 3 saisons de croissance.

Les bilans réalisés dans ce chapitre présentent des approximations mais pourront néanmoins enrichir les bases de données sur les bilans de TTCR de saules et être utilisés pour discuter de la pertinence des paramètres et des indices de qualité présentés dans les chapitres précédents.

III. Résultats

III.1. Concentration et stock en éléments dans les sols et biomasse

Les teneurs en carbone de la matière sèche dans les compartiments bois, feuilles et strates herbacées ne présentent pas de différence significative entre les trois parcelles de saules (tableau 8.1). La proportion d'azote est plus importante dans le bois à Asfeld par rapport à Semuy ou Givry. A l'inverse, les proportions en Ca, K et P sont plus faibles sur ce site. Le C/N des plaquettes à Givry est supérieur à celui des deux autres TTCR. Les feuilles de saules à Givry indiquaient les plus faibles proportions en potassium et azote et la plus haute en calcium. Les concentrations en éléments dans les strates herbacées étaient variables entre les trois parcelles uniquement pour les éléments K, Mg et Na. Les stocks d'éléments dans les 10 premiers cm du sol sont statistiquement équivalents entre les trois parcelles pour le Corg, N, Na et P. Concernant K et Mg, ils sont inférieurs dans le TTCR de Givry et la quantité la plus faible en Ca est observée à Semuy (tableau 8.2). La biomasse herbacée collectée sous les saules (faible à Asfeld) (tableau 8.2) était en partie inversement proportionnelle à la production de saules (fortes à Asfeld). Les quantités d'éléments contenues dans cette strate sont les plus élevées dans la parcelle de Semuy et les plus faibles à Asfeld.

Tableau 8.1 : Pourcentage en éléments et C/N des plaquettes et de feuilles de saules des trois parcelles de TTCR situées à Semuy, Givry et Asfeld et des strates herbacées présentes sous les saules. Les concentrations élémentaires dans les racines n'ont pas été dosées et sont supposées proches de celles des plaquettes. Les différences entre les trois parcelles sont évaluées par ANOVA ($p < 0.05^*$, 0.01^{**} , 0.001^{***} , 0.0001^{****}) avec $a > b > c$ et $n=6$ pour le bois et 4 pour les feuilles et les strates herbacées.

	Bois				Feuilles				Strates herbacées			
	Semuy	Givry	Asfeld	p	Semuy	Givry	Asfeld	p	Semuy	Givry	Asfeld	p
C (%)	46.4 a ± 0.4	46.1 a ± 5.3	47.1 a ± 2.1	—	49.2 a ± 8.3	44.7 a ± 4.4	44.5 a ± 4.9	—	39.9 a ± 11.2	41.7 a ± 8.0	41.7 a ± 4.4	—
N (%)	0.26 b ± 0.09	0.13 c ± 0.04	0.41 a ± 0.12	*	2.45 a ± 0.57	1.36 b ± 0.26	1.94 ab ± 0.51	*	1.22 a ± 0.23	0.75 a ± 0.21	1.15 a ± 0.50	—
C/N	200 b ± 82	394 a ± 133	122 b ± 33	**	20 b ± 1	33 a ± 4	24 b ± 5	**	34 a ± 8	57 a ± 13	43 a ± 24	—
Ca (%)	0.33 a ± 0.06	0.35 a ± 0.02	0.27 b ± 0.03	*	1.76 c ± 0.13	2.54 a ± 0.07	2.29 b ± 0.08	**	0.45 a ± 0.09	0.41 a ± 0.12	0.51 a ± 0.15	—
K (%)	0.14 a ± 0.01	0.13 a ± 0.02	0.11 b ± 0.01	**	0.77 a ± 0.05	0.40 b ± 0.01	0.71 a ± 0.04	****	1.23 b ± 0.14	1.35 b ± 0.29	1.74 a ± 0.11	*
Mg (%)	0.009 a ± 0.002	0.008 a ± 0.001	0.008 a ± 0.001	—	0.084 a ± 0.008	0.084 a ± 0.008	0.088 a ± 0.006	—	0.105 a ± 0.017	0.073 b ± 0.016	0.119 a ± 0.012	*
Na (%)	0.007 a ± 0.002	0.007 a ± 0.002	0.007 a ± 0.001	—	0.016 b ± 0.002	0.024 a ± 0.002	0.022 a ± 0.002	**	0.043 a ± 0.015	0.017 b ± 0.005	0.031 ab ± 0.009	*
P (%)	0.037 a ± 0.004	0.034 a ± 0.003	0.029 b ± 0.004	*	0.146 a ± 0.011	0.126 b ± 0.020	0.108 ab ± 0.010	*	0.088 a ± 0.009	0.074 a ± 0.017	0.071 a ± 0.009	—

A l'inverse, les litières de saules sont plus importantes à Asfeld qu'à Semuy ou Givry. Naturellement, les quantités d'éléments stockés dans le bois de saule sont supérieures dans les TTCR d'Asfeld par rapport aux deux autres parcelles en raison de l'effet biomasse produite. La densité de plants par hectare était plus faible dans le TTCR d'Asfeld ($10\,535 \pm 1630$) que dans les parcelles de TTCR situées à Semuy ou Givry ($13\,389 \pm 743$; $12\,979 \pm 619$).

III.2. Flux de retours au sol, prélèvements annuels et exportations.

L'essentiel des chutes de litière intervient entre fin juin et début novembre (figure 8.2A). Les quantités de litière les plus importantes ont été collectées sur le site d'Asfeld ($3.4\ t_{MS}/ha$), les plus faibles sur les sites de Semuy et Givry ($2.8\ t_{MS}/ha$) (tableau 8.2, figure 8.2B). Le printemps 2011 fut très sec : la pluviométrie hebdomadaire était comprise entre 0 à 10 mm (figure 8.2C).

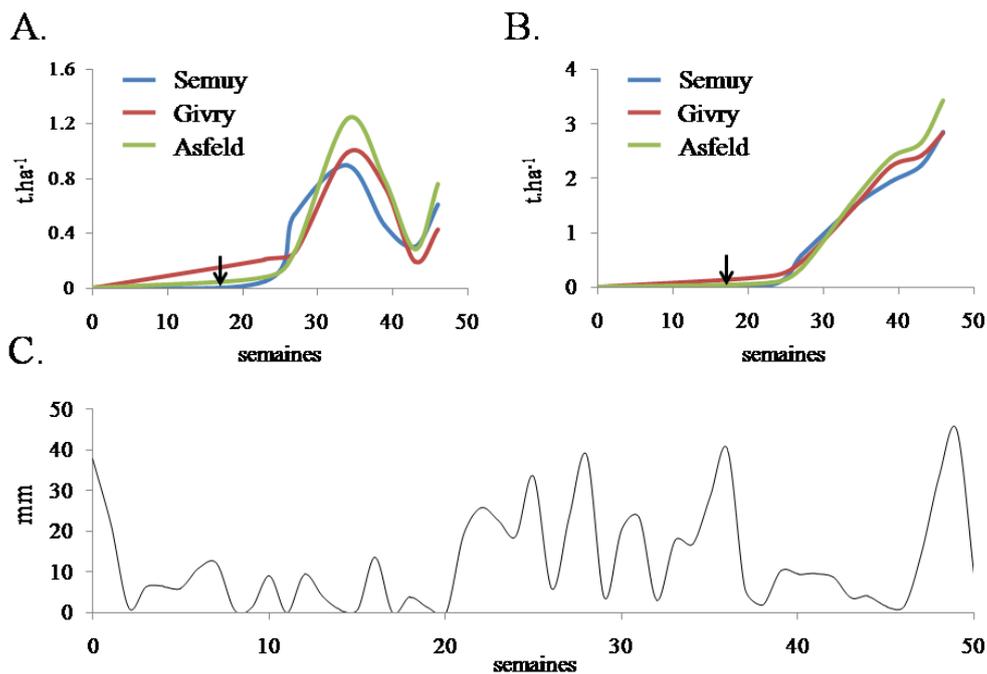


Figure 8.2 : Calendrier hebdomadaire de la chute des litières (A) et quantité cumulée de la chute des litières (B). Les retombées à Asfeld étaient significativement supérieures à celles des parcelles de TTCR de Semuy et Givry (anova, $p < 0.05$). La flèche correspond à la mise en place des pièges (10 mai 2011). Les sols des parcelles ont été récoltés le lendemain du dernier prélèvement : semaine 46. Pluviométrie hebdomadaire (C.)

Tableau 8.2: Matière Sèche (MS) et stock d'éléments minéraux dans le bois de saules après trois ans de pousse, dans les litières de saules et les strates herbacées, et stock dans les 10 premiers cm des sols des trois parcelles de saules. Les lettres représentent les résultats des ANOVA entre les trois parcelles de TCCR ($p < 0.05^*$, $< 0.01^{}$, $< 0.001^{***}$, $< 0.0001^{****}$) (n=6 pour le bois, 4 pour les litières et les strates herbacées, 3 pour le sol).**

kg/ha	bois (2008-2011) (flux 1)				litières des saules (2011)				strates herbacées (2011)				sol (/10cm) novembre 2011			
	Semuy	Givry	Asfeld	p	Semuy	Givry	Asfeld	p	Semuy	Givry	Asfeld	p	Semuy	Givry	Asfeld	p
MS	19710	19940	36370		2848 b ± 160	2831 b ± 124	3421 a ± 355	*	3578 a ± 377	2450 b ± 523	981 c ± 69	****				
Corg	9136 b ± 79	9200 b ± 1050	17138 a ± 750	****	1387 a ± 169	1262 a ± 97	1516 a ± 169	-	1426 a ± 193	1043 a ± 461	411 b ± 96	*	24418 a ± 187	22469 a ± 4600	25638 a ± 1196	-
N	51.5 b ± 17.8	25.4 b ± 7.8	149.9 a ± 44.3	****	68.9 a ± 12.7	38.4 b ± 6.5	65.8 a ± 17.2	*	42.9 a ± 4.7	19.1 b ± 8.5	11.5 b ± 5.6	***	2430 a ± 34	2097 a ± 453	2614 a ± 87	-
Ca	64.2 b ± 11.9	69.5 b ± 3.5	97.4 a ± 11.8	***	50.0 b ± 5.4	71.9 a ± 4.8	78.1 a ± 8.0	***	15.9 a ± 2.7	9.7 b ± 2.2	4.9 c ± 1.3	*	11606 c ± 62	12326 b ± 108	14547 a ± 54	****
K	28.3 b ± 2.4	26.5 b ± 3.4	38.4 a ± 3.0	****	22.0 a ± 2.1	11.3 b ± 0.6	24.3 a ± 2.6	****	43.8 a ± 3.3	32.2 b ± 5.4	17.1 c ± 1.7	***	225 a ± 2	182 b ± 23	230 a ± 8	*
Mg	1.8 b ± 0.3	1.7 b ± 0.3	3.0 a ± 0.2	****	2.39 b ± 0.32	2.39 b ± 0.28	3.00 a ± 0.4	*	3.76 a ± 0.58	1.77 b ± 0.50	1.17 b ± 0.12	***	248 a ± 7	218 b ± 2	249 a ± 2	***
Na	1.4 b ± 0.4	1.4 b ± 0.5	2.5 a ± 0.2	***	0.45 b ± 0.05	0.67 a ± 0.07	0.75 a ± 0.08	**	1.49 a ± 0.48	0.42 b ± 0.18	0.30 b ± 0.08	***	16.97 a ± 1.47	19.73 a ± 1.72	18.40 a ± 0.28	-
P	7.2 b ± 0.8	6.8 b ± 0.5	10.6 a ± 1.5	****	4.14 a ± 0.37	3.56 a ± 0.56	3.72 a ± 0.62	-	3.14 a ± 0.20	1.76 b ± 0.34	0.69 c ± 0.09	***	42.36 a ± 1.79	60.50 a ± 24.87	70.14 a ± 3.1	-

Même si les chutes de litière sont supérieures à Asfeld, les retours au sol sont globalement plus élevés sur les TTCR de Semuy et Givry en considérant les apports de la strate herbacée et les flux 4 et 8 (apports ligneux aériens et souterrains par mortalité des plants) qui augmentent avec l'âge des parcelles (tableaux 8.2 et 8.3, figure 8.2). Le retour d'éléments au sol par les chutes de litière représente le flux le plus important, 38 à 54% pour le carbone ou 60 à 77% pour l'azote ou le phosphore, mais seulement 25 à 56% pour le potassium (tableau 8.4). Sur les TTCR de Semuy et Givry, les retours par les strates herbacées peuvent être équivalents ou supérieurs à ceux par les chutes de litières (tableaux 8.2 et 8.3, figure 8.2). Par exemple, à Semuy, le retour de carbone organique par la strate herbacée représente 39% des retours au sol de cet élément et dépasse les retours par les litières de feuilles. A Givry et Semuy, respectivement 70 et 64 % du potassium qui retourne au sol provient des litières herbacées.

Les prélèvements annuels de 2011 illustrés dans le tableau 8.3 sont supérieurs aux retours pour la parcelle de TTCR d'Asfeld. En revanche, à Givry et Semuy, la somme des retours au sol incluant le turn over racinaire compense le prélèvement moyen annuel. Les retours annuels (2011) par les litières, les bois morts, les racines fines, les racines structurelles, la strate herbacée (somme des flux 3, 4, 5, 7 et 8), compensent ou même dépassent les exportations pour K et Mg dans les trois parcelles et pour N, Na et P dans les parcelles de Givry et Semuy ou bien ne sont pas compensés et se traduisent par un déficit comme pour C, Ca ou N, Na et P à Asfeld.

Tableau 8.3 : Flux internes de l'écosystème sol-plante des trois parcelles de TTCR sur l'année 2011 concernant le Corg, N, Ca, K, Mg, Na, P. Les prélèvements annuels (2011) correspondent à l'addition de l'exportation d'éléments par la biomasse ligneuse produite en un an (flux₁ /3) et de l'exportation d'éléments contenus dans les feuilles de saules; 3. Apports des litières en novembre 2011 ; 4. Apport d'éléments par mortalité de la biomasse ligneuse ; 5. Apport d'éléments par les strates herbacées ; 7. Apport d'éléments par le flux de racines fines ; 8. Apport d'éléments par mortalité des racines.

kg/ha/an	prélèvements et retours annuels			litières des saules (3)				bois mort (4)				
	Semuy	Givry	Asfeld	Semuy	Givry	Asfeld	p	Semuy	Givry	Asfeld	p	
Corg	4432 3632	4328 3113	7228 2822	1387 a ± 169	1262 a ± 97	1516 a ± 169	—	129 a ± 1	124 a ± 14	72 b ± 3	****	
N	86 116	47 60	116 85	68.9 a ± 12.7	38.4 b ± 6.5	65.8 a ± 17.2	*	0.73 a ± 0.25	0.34 b ± 0.10	0.63 a ± 0.19	*	
Ca	71 72	95 88	111 88	50.0 b ± 5.4	71.9 a ± 4.8	78.1 a ± 8.0	***	0.91 a ± 0.17	0.94 a ± 0.05	0.41 b ± 0.05	****	
K	31 68	20 46	37 43	22.0 a ± 2.1	11.3 b ± 0.6	24.3 a ± 2.6	****	0.4 a ± 0.03	0.36 b ± 0.05	0.16 c ± 0.01	*	
Mg	3.0 6.3	2.9 4.3	4.0 4.3	2.39 b ± 0.32	2.39 b ± 0.28	3.00 a ± 0.4	*	0.026 a ± 0.005	0.023 a ± 0.004	0.012 b ± 0.001	***	
Na	0.9 2.1	1.2 1.2	1.6 1.2	0.45 b ± 0.05	0.67 a ± 0.07	0.75 a ± 0.08	**	0.020 a ± 0.006	0.020 a ± 0.007	0.010 b ± 0.001	*	
P	6.5 7.9	5.8 5.9	7.3 5.0	4.14 ± 0.37	3.56 ± 0.56	3.72 ± 0.62	—	0.102 a ± 0.011	0.091 b ± 0.007	0.044 c ± 0.006	*	
kg/ha/an	strates herbacées (5)				racines fines (7)				mortalité des racines structurales (8)			
	Semuy	Givry	Asfeld	p	Semuy	Givry	Asfeld	p	Semuy	Givry	Asfeld	p
Corg	1426 a ± 193	1043 a ± 461	411 b ± 96	*	657 b ± 6	653 b ± 75	806 a ± 35	***	32.3 a ± 0.3	31.0 a ± 4.0	18.0 b ± 0.8	****
N	42.9 a ± 4.7	19.1 b ± 8.5	11.5 b ± 5.6	***	3.71 b ± 1.28	1.80 c ± 0.55	7.05 a ± 2.08	*	0.18 a ± 0.06	0.09 b ± 0.03	0.16 a ± 0.05	*
Ca	15.9 a ± 2.7	9.7 b ± 2.2	4.9 c ± 1.3	*	4.62 ± 0.86	4.93 ± 0.25	4.58 ± 0.56	—	0.23 a ± 0.04	0.23 a ± 0.01	0.10 b ± 0.01	****
K	43.8 a ± 3.3	32.2 b ± 5.4	17.1 c ± 1.7	***	2.03 ± 0.17	1.89 ± 0.24	1.81 ± 0.14	—	0.10 a ± 0.01	0.09 b ± 0.01	0.04 c ± 0.00	*
Mg	3.76 a ± 0.58	1.77 b ± 0.50	1.17 b ± 0.12	***	0.131 ± 0.024	0.119 ± 0.02	0.140 ± 0.011	—	0.006 a ± 0.001	0.006 a ± 0.001	0.003 b ± 0.000	***
Na	1.49 a ± 0.48	0.42 b ± 0.18	0.30 b ± 0.08	***	0.104 ± 0.03	0.103 ± 0.037	0.117 ± 0.009	—	0.005 a ± 0.001	0.005 a ± 0.002	0.003 b ± 0.000	*
P	3.14 a ± 0.20	1.76 b ± 0.34	0.69 c ± 0.09	***	0.519 ± 0.055	0.482 ± 0.036	0.499 ± 0.072	—	0.025 a ± 0.003	0.023 b ± 0.002	0.011 c ± 0.002	*

Tableau 8.4 : Bilan des retours au sol d'éléments nutritifs des parcelles de TTCR sur l'année 2011, exprimés en pourcentage par rapport au retour total estimé.

%	litières foliaires (3)			branches mortes (4)			strates herbacées (5)			racines fines (7)			racines mortes (8)		
	Semuy	Givry	Asfeld	Semuy	Givry	Asfeld	Semuy	Givry	Asfeld	Semuy	Givry	Asfeld	Semuy	Givry	Asfeld
C	38.2	40.5	53.7	3.6	4.0	2.5	39.3	33.5	14.6	18.1	21.0	28.6	0.9	1.0	0.6
N	59.2	64.4	77.3	0.6	0.6	0.7	36.9	31.9	13.5	3.2	3.0	8.3	0.2	0.1	0.2
Ca	69.8	82.0	88.6	1.3	1.1	0.5	22.2	11.0	5.6	6.4	5.6	5.2	0.3	0.3	0.1
K	32.1	24.6	56.0	0.6	0.8	0.4	64.2	70.3	39.4	3.0	4.1	4.2	0.1	0.2	0.1
Mg	37.9	55.4	69.4	0.4	0.5	0.3	59.5	41.1	27.0	2.1	2.8	3.2	0.1	0.1	0.1
Na	21.9	54.9	63.7	1.0	1.6	0.9	71.9	34.6	25.3	5.0	8.4	9.9	0.2	0.4	0.2
P	52.2	60.1	74.9	1.3	1.5	0.9	39.6	29.8	13.9	6.6	8.2	10.1	0.3	0.4	0.2

III.3. Evolution des éléments dans l'horizon superficiel du sol et bilan estimé du carbone

L'évolution temporelle des éléments dans le sol (figure 8.3) indique que la concentration en carbone organique et en azote diminue dans les sols des TTCR de Givry et Asfeld par rapport aux sols sur lesquels ont été plantés les taillis. A l'inverse, la parcelle de Semuy semble accumuler du carbone organique. Les trois parcelles de saules présentent des concentrations en phosphore disponible et en potassium échangeable qui diminuent par rapport aux sols de références. La CEC et le magnésium échangeable n'ont pas évolué sur le site d'Asfeld. En revanche, ils ont augmenté dans les TTCR à Semuy et Givry (statistiques non présentées).

La figure 8.4 présente les flux calculés ou estimés du bilan carbone interne à l'écosystème sol-plante des trois parcelles de TTCR. A Semuy, la culture de TTCR constitue un puits de carbone. Elle a apporté, en 2011, 3.6 t C/ha au sol alors que 3.0 t C/ha/an ont été exportées. A Givry, le TTCR a apporté 3.1 t C/ha et 3.0 t C/ha/an ont été exportées. A l'inverse, le haut rendement à Asfeld entraîne un déficit de Corg au sol (5.7 t C/ha/an exportées vs. 2.8 t C/ha apportées au sol en 2011). La quantité de carbone potentiellement minéralisable, mesurée en condition contrôlée de température et d'humidité (28 °C et 80% de la capacité au champ), est à Semuy et Givry supérieure au pool de carbone organique labile présent sur les 10 premiers centimètres du sol.

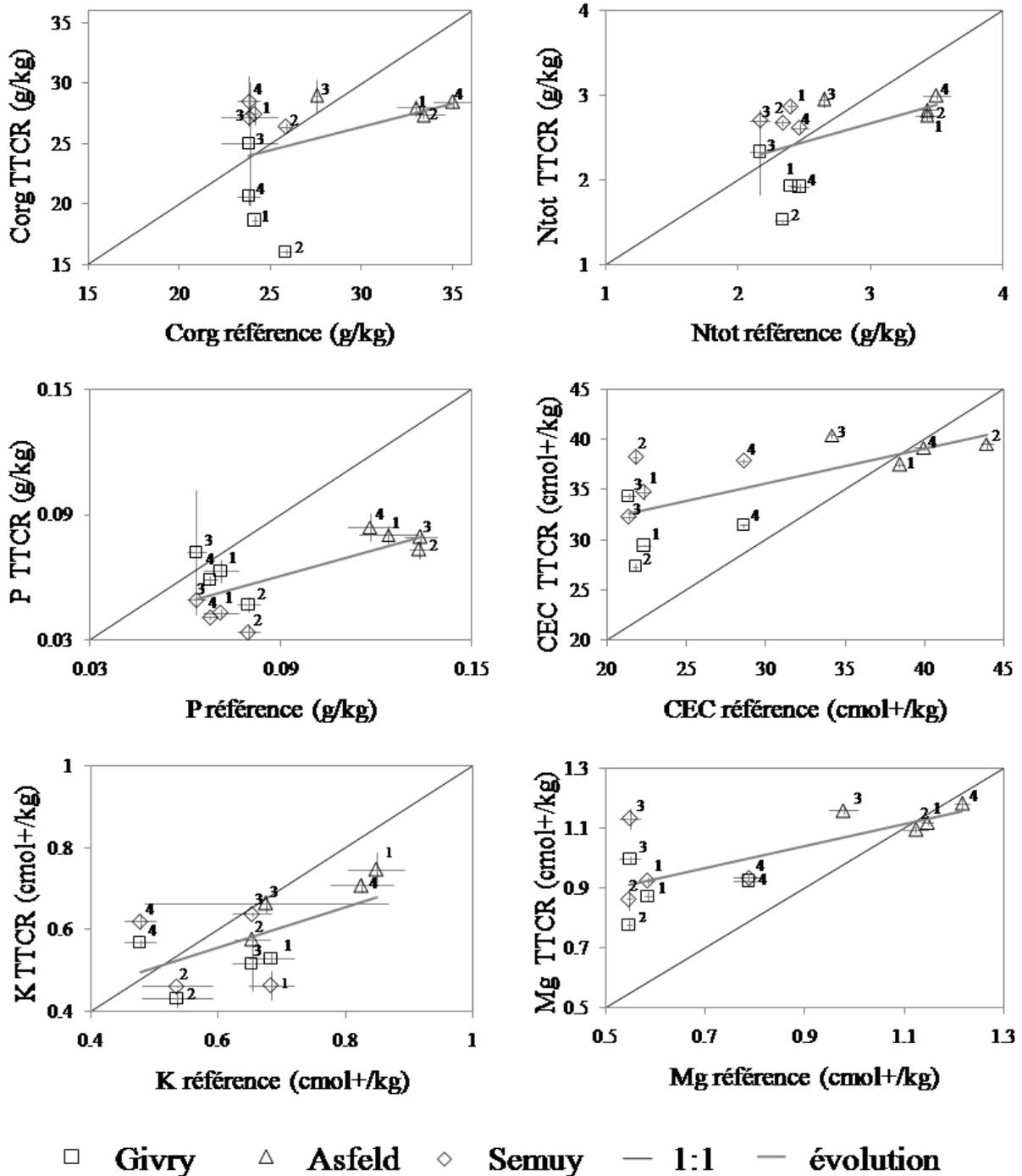


Figure 8.3 : Evolution de la CEC et des concentrations en carbone organique, azote total, phosphore disponible, potassium et magnésium échangeable dans les parcelles de TTCR par rapport à leurs sites de références (agrosystème pour les TTCR de Semuy et Givry et la bande enherbée du site d'Asfeld). Les quatre points pour chaque site correspondent aux temps de prélèvement T1 à T4. Les barres d'erreurs représentent l'écart type au sein des triplicats à un temps de prélèvements.

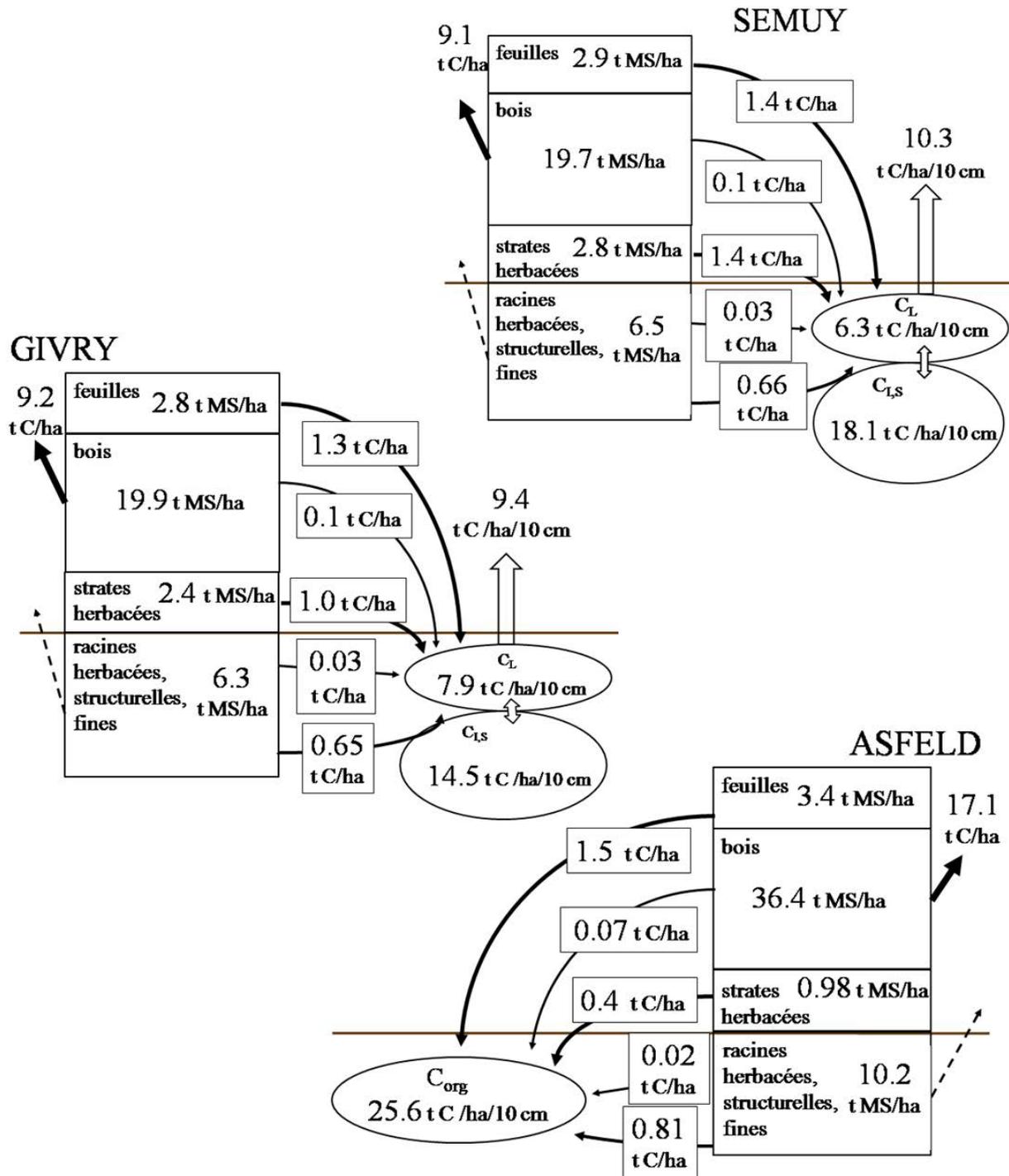


Figure 8.4 : Compartiments foliaires, ligneux, herbacés et racinaires (en tonnes de matière sèche/ha) et flux de carbone sur les trois parcelles de TTCR situées à Semuy, Givry et Asfeld (année 2011). Le flux de carbone minéralisé est également indiqué pour les parcelles de Semuy et Givry. (C_L : carbone labile, $C_{L,S}$: carbone intermédiaire et stable)

IV. Discussion

Les concentrations d'éléments analysés dans les plaquettes de saules du clone tora (*Salixschwerinii* x *S. viminalis*) planté dans les Ardennes sont inférieures aux teneurs habituelles des espèces *S. purpurea*, *discolor* et *viminalis* (0.4 à 0.7% pour l'azote, 0.3 à 0.6% pour le calcium, 0.2 à 0.4% pour le potassium, 0.04 à 0.07% pour le magnésium et 0.07 à 0.1% pour le phosphore) (Labrecque et al. 1998, Jug et al. 1999a, Ens et al. 2013). Les C/N des plaquettes des trois parcelles sont variables, mais proches des rapports répertoriés dans la littérature (120 à 302) (Toenshoff et al. 2013). Cette variabilité peut probablement s'expliquer par une efficacité différente de nutrition azotée (Weih 2001, Marron et al. 2011). Le rapport C/N des litières de saules avoisine les teneurs observées par Jug et al. (1999b), qui indiquent des $C/N \geq 20$.

Les prélèvements annuels moyens d'éléments minéraux (kg/ha/an) par les saules des trois parcelles sont inférieurs à ceux observés dans des TTCR de peupliers présentant des densités proches (12 500 plants/ha) et des rendements similaires à ceux du site d'Asfeld (>10tMS/ha/an). En effet pour ces TTCR de peupliers ayant subi deux récoltes, Berthelot et al. (2000), Ranger (2003), Ranger et al. (2011) observent des prélèvements de 70-110 pour N, 180-200 pour Ca, 70-110 pour K, 10-20 pour Mg et 10-20 pour P kg/ha/an.

Le printemps sec de l'année 2011 peut expliquer les chutes précoces de litières sur les trois parcelles (dès juin). Dans des taillis de peupliers, les flux de retours par la litière représentent les plus gros apports d'éléments dans le sol, 80 % pour N et Ca, 60 % pour Mg et moins de 50% pour K (Meiresonne et al. 2007). Ces valeurs sont proches, et même sensiblement inférieures, à celles des retours d'éléments au sol calculés avec les litières collectées à Asfeld. Les valeurs pour les parcelles de Givry et Semuy sont légèrement plus faibles. Cependant, des retours supérieurs à ceux des litières de saules s'effectuent par les strates herbacées pour Mg et K à

Semuy et Givry alors qu'ils sont équivalents ou plus faibles pour les autres éléments. Le non contrôle des strates herbacées après la récolte, dont le développement conduit au prélèvement d'une masse importante d'éléments, représente une part importante de la fertilité qui est restituée au sol mais qui contribue à des pertes de rendements par concurrence nutritionnelle (Sage 1999). Un chevauchement racinaire horizontal et une distribution uniforme des racines, observés sur les parcelles pendant le prélèvement de racines, suggère une forte compétition pour les ressources du sol (Heinsoo et al. 2009). Ce phénomène est fréquemment observé dans des TTCR quand les strates herbacées sont bien développées (Berhongaray et al. 2013).

Le flux d'un retour nutritif au sol via le turn over racinaire est parfois bien supérieur à celui estimé ici : 85 kg d'azote /ha/an (50% des retours d'azote) retournerait au sol via les racines fines (Block et al. 2006). Selon cinq modèles, les retours de carbone organique au sol par les racines se situent entre 2,8 à 4.3 t C/ha/an (Grogan and Matthews 2002) alors que Berhongaray et al. (2013a) estimaient le retour par les racines fines à 0.4 t_{MS}/ha/an. Les différentes méthodes de mesures des racines fines peuvent aboutir à des résultats très variables d'autant plus qu'il n'y a pas de méthodes normalisées reconnues pour calculer la production de racines fines (Vogt et al. 1998). De plus, les taux de production et de mortalité des racines ne sont pas constants dans le temps, avec des périodes de haute productivité ou de haute mortalité suivant un flux saisonnier (Block et al. 2006). Ce flux est donc chargé d'incertitude, même quand il est mesuré *in situ*. Les prélèvements relativement élevés dans les trois parcelles sont tamponnés par des restitutions importantes. Dans ces cycles courts du carbone et des éléments nutritifs (N, Ca, K, Mg, P), il apparaît que les retours (litières, bois morts, racines fines, mortalité des racines structurelles, strate herbacée) contribuent à tamponner les exportations dans la mesure où une bonne décomposition des matières organiques aux sols a été observée dans les parcelles étudiées (chapitre 7). Ces éléments peuvent expliquer le maintien de l'indice de fertilité des TTCR (chapitre 6).

Néanmoins, dans les sols des trois parcelles de TTCR, une diminution d'azote, de phosphore disponible et de potassium échangeable est observée (figure 8.3). L'absorption d'azote par les saules dépasse souvent les taux de minéralisation et malgré des retours au sol importants, une diminution chronique s'installe si aucun apport n'est réalisé (Ledin, 1998, Ens et al. 2013). Des apports compris entre 60 à 120 kg/ha/an pour l'azote et d'environ 30 kg/ha/an pour le phosphore et 80 kg/ha/an pour le potassium sont généralement recommandés pour maintenir les niveaux de productivité des parcelles de TTCR (Ericsson 1994, Adegbedi et al. 2003). Une évolution du phosphore minéral vers une forme organique dans les litières et par voie de conséquences dans la matière organique du sol est fréquente après l'afforestation et expliquerait la sensibilité et le bilan négatif du P minéral (Chen et al. 2000). Une fois le cycle interne en place, le recyclage du phosphore par les litières est généralement efficace (Quaye et al. 2011). Aucune perte de P dissous dans les eaux de drainage n'a jamais été constatée. La méthode d'extraction du phosphore par la méthode Olsen est une extraction douce par NaHCO_3 pour estimer le phosphore facilement disponible. Elle peut conduire à sous estimer voire ignorer le P complexé à la matière organique qu'il faudrait caractériser. P et K peuvent être rétrogradés avec formation d'apatite et/ou d'illite. Ce dernier mécanisme peut expliquer, en partie, le bilan négatif de ces éléments dans le sol. Par ailleurs, des pertes importantes par lixiviation ont été constatées pour K^+ qui est plus mobile et présente moins d'affinités que le Ca^{2+} pour les matières organiques mais qui a cependant une affinité forte pour les argiles de type vermiculite (Joussein et al. 2004). Cette complexation pourrait limiter la lixiviation mais contribuer à une immobilisation et à la non disponibilité du K. D'autre part, les retours de potassium par les litières sont faibles : le cycle interne semble peu efficace (Meiresonne et al. 2007, Ens et al. 2013). Mais K^+ est fortement recréé (retour au sol par les pluviollessivats)(Ranger et al. 1995), par conséquent, l'efficacité du cycle biologique du potassium est à nuancer et mérite aussi d'être précisée. Dans son ensemble et dans la majorité

des cas, la CEC diminue dès le premier cycle de rotation des TTCR s'il n'y a pas de fertilisation (Jug et al. 1999, Ens et al. 2013). Dans notre étude, la CEC et le magnésium échangeable semblent peu impactés par l'implantation des TTCR. Leurs valeurs ont augmenté dans les deux parcelles plantées sur des cultures annuelles. Le changement de la qualité des matières organiques (diminution de l'indice hydrogène et augmentation de l'indice IO_{CO} chapitre 7) pourrait expliquer une augmentation de la CEC sur les deux parcelles plantées sur des cultures de maïs, alors que la quantité de carbone a diminué dans les TTCR de Givry. Il y aurait augmentation des sites échangeables associés à la présence de groupements fonctionnels oxygénés.

Les flux de carbone mesurés et estimés confirment le potentiel puits de carbone de la parcelle de Semuy souligné au chapitre 7 et valident les résultats sur l'évolution du Corg dans le sol de surface. La forte variabilité des teneurs en carbone organique dans le TTCR de Givry pourrait s'expliquer par la forte hétérogénéité de la parcelle (cf. écart type sur les stocks d'éléments dans le sol présentés au tableau 8.2), par une forte minéralisation induite avec des phénomènes de « priming effect » engendrés par les apports de litière et/ou par les apports racinaires. Enfin, la concentration en carbone organique n'a été évaluée que sur l'horizon de surface ce qui constitue une limite importante dans l'interprétation des résultats. La stabilité du profil de sol qui contient beaucoup plus de carbone a pu être modifiée par l'implantation d'essences ligneuses (Jobbagy and Jackson 2000). Les arbres tendent à apporter et accumuler le carbone en surface avec les retombées de litière. Les racines plus profondes ont pu entraîner des phénomènes de « priming effect » en favorisant la minéralisation du carbone stabilisé ou au contraire apporter des MO qui augmentent les stocks globaux de carbone, qui n'ont pas pu être estimés dans cette étude.

V. Conclusion

D'une manière générale, dans les systèmes forestiers, le cycle biogéochimique des éléments nutritifs est très performant avec une disponibilité et un recyclage élevés des éléments nutritifs. Ceci est lié aux prélèvements impliquant les litières, aux translocations internes dans la plante elle-même et aux retours par libération sous forme assimilable d'éléments impliquant les activités microbiennes. Les flux, dans les peuplements forestiers, montrent que la fertilité du sol repose sur un pool limité d'éléments nutritifs qui circulent rapidement dans le système (Ranger 2003). Dans les TTCR, même si une part importante de ce qui est prélevé retourne au sol, les quantités d'éléments exportés après un cycle de trois ans, peuvent entraîner des bilans négatifs, notamment sur le site d'Asfeld même si certains cycles présentent un bilan positif (K, Mg). Sur les sites de Semuy et Givry, les importantes strates herbacées qui se sont développées au détriment des saules limitent l'effet des exportations de plaquettes en constituant un puits d'éléments intégralement restitués au sol. Néanmoins, les concentrations de phosphore et de potassium ont diminué dans les sols des trois parcelles et les concentrations en azote et carbone organique ont diminué à Givry et Asfeld. Toutefois une observation sur l'intégralité du profil de sol et sur un temps plus long s'impose pour valider cette étude.

Chapitre 9. Discussion et conclusion générale.

Discussion générale

Ce travail de recherche visait (i) à approfondir les connaissances sur l'impact de la production de bois énergie par culture de TTCR sur le fonctionnement des sols (ii), à sélectionner des indicateurs et à définir une méthode de suivi de la qualité de sols soumis à de fortes exportations de bois. Pour répondre à ces objectifs, des paramètres de caractérisation du fonctionnement du sol, sous quatre parcelles de TTCR, ont été comparés à ceux d'un agrosystème de culture annuelle, de bandes enherbées et d'une forêt alluviale. L'étude a été localisée dans une seule zone pédoclimatique et concernait des sols formés sur des alluvions calcaires dans les Ardennes. Nous avons développé une approche de terrain et appliqué des protocoles permettant (i) le suivi temporel de la fertilité, de l'activité biologique, des communautés microbiennes et lombriciennes du sol, (ii) la mesure des changements quantitatifs et qualitatifs des matières organiques du sol, (iii) une estimation de la qualité des sols à partir de ces différents paramètres, (iiii) un bilan du carbone et des éléments nutritifs des parcelles de saules.

Rôle des communautés biologiques et de leurs activités sur le fonctionnement du système sol-plante des TTCR

L'évolution des communautés biologiques du sol suite au changement d'usage a été montrée dans les chapitres 3 à 5. Plusieurs résultats originaux peuvent être soulignés : Une augmentation des densités fongiques et du rapport F:B, par rapport aux trois autres usages du sol étudiés, a été observée sur les quatre parcelles de TTCR. Parallèlement, la structure des communautés fongiques s'est modifiée dans le sol des parcelles de TTCR par rapport à leurs précédents culturels (jachères ou agrosystème) et les activités laccase ont augmenté. Quand

ils sont implantés sur des cultures annuelles, les TTCR ont favorisé le développement des vers de terre épigés et anéciques et la diversité lombricienne.

L'arrêt du labour et des apports de pesticides peuvent expliquer en partie l'augmentation du rapport F:B et les modifications de structure des communautés microbiennes (chapitre 5). Suite à l'implantation des TTCR, les litières foliaires et racinaires apportent un changement qualitatif et quantitatif des matières organiques dans les horizons de surface (chapitre 7 et 8). L'apport de matières organiques, avec un C/N différent, modifie la stœchiométrie écologique (Enríquez et al. 1993, Gessner et al. 2010). Le C/N des litières foliaires de saules ($C/N > 20$) est supérieur à celui de matières végétales vertes plus facilement décomposables ($7 < C/N < 10$) et les C/N des strates herbacées des parcelles de TTCR sont particulièrement élevés (34 à 57) (tableau 8.1). Une augmentation progressive du C/N entre T1 et T4 dans les parcelles de TTCR a été observée (tableau 6.2) qui reste cependant relativement bas. Le C/N de la biomasse bactérienne étant plus faible que celui des champignons, ceux-ci peuvent avoir un rôle prépondérant dans la dégradation des MO dans des milieux où la disponibilité des éléments est faible (Strickland and Rousk 2010). Ils peuvent même dominer dans des milieux avec un C/N bas mais limitant en phosphore (Güsewell and Gessner 2009). L'augmentation du rapport F:B dans les quatre parcelles de saules peut donc être également la conséquence du changement de substrat et confirme l'hypothèse d'une évolution des matières organiques vers des formes plus ou moins récalcitrantes des éléments N et P (chapitre 8). Cette hypothèse est appuyée par l'étude récente de Baum et al. (2013), montrant une diminution de la disponibilité de l'azote dans des TTCR de peupliers après 6 ans de plantation. En revanche, la quantité de MO ne semble pas impacter l'abondance et la diversité fongique ni le rapport F:B (tableau 6.3). Toutefois l'évolution des communautés peut expliquer le maintien d'une bonne biodégradabilité des MO. Par exemple, les modifications de proportions des groupes écologiques de vers de terre, avec une augmentation des deux groupes les plus saprophages

(épigés et anéciques) dans les TTCR sont à relier à une augmentation des apports de MO en surface et de leurs recyclages par rapport à l'agrosystème (Bohlen et al. 2004). En effet, les vers épigés sont responsables de la disparition rapide des litières et de la remise en circulation rapide du phosphore organique sous forme disponible (Suárez et al. 2004). Les modifications d'activités enzymatiques, notamment l'augmentation de l'activité des laccases (tableau 6.2), contribuent à expliquer les bons taux de minéralisation des MO du sol des parcelles de TTCR qui sont équivalents aux taux des MO de la forêt et compris entre ceux de l'agrosystème (les plus faibles) et ceux des bandes enherbées (les plus élevés) (tableau 6.2, figure 7.1). L'évolution de l'indice hydrogène qui diminue dans le sol des TTCR par rapport à leurs précédents culturels (figure 7.6) peut souligner une MO mature, ayant déjà subi une biodégradation contribuant à la formation de groupements fonctionnels plus oxygénés (chapitre 7, Soto 2009). Nos résultats, et l'observation macroscopique des litières sur les sols des parcelles, montrent que les MO dans les TTCR de l'étude présentent une biodégradation rapide et élevée qui permet de tamponner l'effet des exportations intensives sur la fertilité du sol (chapitre 8). Un recyclage biologique efficace des éléments N, P et K, qui semblent avoir évolué vers des formes organiques, est probable car, même si leurs concentrations ont diminué par rapport aux usages témoins, les valeurs sont relativement constantes ou ne montrent pas de diminution temporelle dans les sols des TTCR (tableau 6.2 et chapitre 8).

Choix et pertinence des indicateurs

Il n'y a pas actuellement de consensus sur un groupe d'indicateurs synthétiques permettant d'évaluer les principales fonctions du sol et encore moins pour les généraliser à tous les types de sols (Garrigues et al. 2012). Les causes principales sont le manque de données référencées (Arshad and Martin 2002, Chaer et al. 2009), et pour de nombreux indicateurs, leur incapacité à répondre à la totalité des critères requis (reproductibilité,

transférabilité, sensibilité etc...). Des recherches sont encore nécessaires. Dans notre étude, la variation des indicateurs liés aux communautés biologiques entre les sites, bien qu'il s'agisse de sols comparables, a été démontrée dans le chapitre 5 (tableau 5.4). Les parcelles situées à Amagne sont particulièrement discriminées par rapport aux autres. Le pourcentage élevé d'argile, avec ses conséquences texturales et structurales mais également avec les biais analytiques qu'engendre la réactivité de surface des argiles, pourrait contribuer aux valeurs élevées de MO, CEC, d'abondance bactérienne, aux structures des communautés bactériennes bien distinctes (figure 5.3) et aux faibles biomasses lombriciennes échantillonnées sur le site d'Amagne (chapitre 5 et 7). Par ailleurs, les indicateurs liés aux communautés fongiques discriminent bien les quatre usages du sol et sont moins dépendants des sites (tableau 5.4). Ces résultats s'approchent de ceux du site qualiAgro, du programme Bioindicateurs II de l'ADEME, où la structure des communautés fongiques est plus sensible aux différences de qualité des amendements organiques apportés au sol que les communautés bactériennes (Feix et al. 2012).

La plupart des indicateurs d'activités biologiques sont corrélés à la quantité de matière organique, c'est le cas de la respiration basale, des activités phosphatases, FDA, laccase, et de la nitrification basale (tableaux 6.3 et 7.4), ce qui confirme le rôle intégrateur de ce paramètre comme proxy d'évaluation de l'activité biologique globale d'un sol (Ghani et al. 2003). Dans un contexte de changement d'usage récent, le carbone organique labile s'avère être un indicateur rapidement modifié et présentant également de fortes corrélations avec l'activité biologique du sol ($r > 0.95$), avec la respiration et avec la nitrification basale (chapitre 7). En effet, des différences significatives de teneur en carbone hydrosoluble (g/kg) étaient perceptibles en 2010 entre les quatre usages du sol (forêt > agrosystème > bandes enherbées > TTCR) (figure 7.1) alors que le niveau de Corg total (g/kg) pour le même prélèvement ne présentait pas de différences significatives (tableau 3.1).

D'après les résultats de ce travail, il apparaît que les indicateurs liés aux communautés fongiques, lombriciennes, à l'abondance bactérienne ainsi qu'aux activités enzymatiques (excepté la leucine amino peptidase) sont sensibles à la conversion des agrosystèmes en TTCR (tableau 6.2, tableau 4.2, chapitre 5). Les vers de terre renseignent sur l'impact de l'agriculture sur des interactions non-trophiques dues à leur rôle d'ingénieurs de l'écosystème (Lavelle 2002). D'autre part, les activités enzymatiques du sol témoignent du rôle fonctionnel de la structure des communautés microbiennes. La prise en compte simultanée de ces bioindicateurs avec les indicateurs chimiques de fertilité du sol et les estimations du bilan nutritif et du carbone des parcelles de TTCR permet d'obtenir une meilleure compréhension des cycles biologiques des éléments dans ces systèmes sol-plante.

Agrégation des données pour mesurer la qualité des sols

L'agrégation des données pour mesurer la qualité des sols constitue toujours une perte d'informations tout en simplifiant la compréhension des résultats. Les deux techniques utilisées dans cette thèse sur les parcelles des sites de Semuy, Givry et Asfeld aboutissent aux mêmes résultats, illustrant le gradient suivant de qualité du sol : forêt>bande enherbée>TTCR>agrosystème (figure 4.5 et chapitre 6). De plus, les IQS calculés sont cohérents avec les rendements des parcelles avec les plus fortes valeurs obtenues pour le TTCR d'Asfeld. En revanche, quand les IQS globaux sont calculés sur les quatre parcelles de TTCR, ils ne sont pas corrélés aux rendements des TTCR (Annexe 7). Ce résultat limite fortement l'utilisation des IQS avec ce MDS (*minimum data set*) d'indicateurs pour prédire le potentiel agronomique d'une parcelle de TTCR à l'échelle d'un territoire. Cependant, il faut souligner que dans notre étude, aucun indicateur lié à la texture ou à la minéralogie du sol n'a été mesuré. Par ailleurs, les pourcentages de fractions granulométriques sont délicats à introduire dans les IQS car les trois types de texture, argileuse, limoneuse ou sableuse, ont des

atouts et des contraintes différents. Les sols argileux ont une forte capacité d'échange, mais comportent une forte imperméabilité, des risques d'asphyxie, un mauvais drainage, des contraintes au développement racinaire. Ces contraintes, visibles macroscopiquement sur le site d'Amagne, ont participé à la mauvaise implantation des boutures (déficit hydrique et contraintes physiques vis-à-vis du développement des racines) et aux faibles rendements de la parcelle d'Amagne malgré sa forte fertilité et une composante biologique (activité et communauté) similaire aux autres parcelles (Annexe 7, figure 2). Les courbes de réponses (« more is better », « less is better ») des fractions granulométriques ne sont donc pas établies (Van Bruggen and Semenov 2000). Les indicateurs associés à des diversités pédoclimatiques marquées de sites divers sont délicats à inclure dans des calculs de type IQS. Il est alors conseillé de comparer les indices synthétiques uniquement entre des sols parfaitement similaires (Pulleman et al. 2012).

Limites du travail et perspectives

L'évaluation du bilan nutritif et des compartiments et flux internes du cycle du carbone a été effectuée en prenant en compte seulement les 10 premiers cm du sol, et non pas l'ensemble du profil. En effet, d'une part les taillis tendent à augmenter les éléments en surface (Hölscher et al. 2001) et d'autre part l'implantation de ligneux, dans des zones agricoles, redistribue le carbone dans l'ensemble du profil de sol (Lockwell et al. 2012). Pour compléter le suivi détaillé sur les parcelles de TTCR des sites de cette étude, mesurer les stocks en profondeur permettrait, en utilisant les indicateurs explorés dans le chapitre 7, de calculer des indices de qualité du sol concernant la fonction de stockage de carbone par exemple, et de mieux évaluer le bilan du carbone (figure 8.4). Il est envisagé dans le projet piCaSo (Pilotage sylvicole et contrôle pédologique des stocks de carbone des sols forestiers)

subventionné par l'ADEME et coordonné par L. Cécillon (Irstea Grenoble) d'inclure les parcelles de notre étude et d'en mesurer les stocks sur l'ensemble du profil de sol. Cependant, insuffisamment de connaissances sont disponibles pour comprendre les facteurs de formation et d'évolution des stocks de carbone organique en sols calcaires alors que ceux-ci sont très répandus (Sartori et al. 2006, Feller and Chenu 2012). Par conséquent, en complément de ces futures investigations, déterminer la répartition dans le profil et la minéralogie des argiles pourrait apporter de bons éléments d'explication sur les variations intra-sites, d'autant plus qu'elles sont un déterminant très important dans la stabilisation des MO (Moni et al. 2010).

Les parcelles de TTCR étudiées étaient âgées de 4 à 6 ans en mai 2012, au dernier prélèvement de terrain. Les paramètres étudiés mériteraient d'être analysés et les résultats validés pour des périodes plus longues et après plusieurs récoltes. Nous avons supposé une efficacité des TTCR étudiés pour les recyclages de l'azote et du phosphore via les litières et l'activité biologique, qui mériterait d'être validée, en particulier sur des temps de culture plus longs. Le rôle potentiel des champignons mycorhiziens, qui ont un rôle majeur pour l'acquisition des nutriments, en particulier du phosphore, dans les écosystèmes forestiers (Plassart et Dell 2010), reste à préciser sur nos sites. L'étude du rôle des mycorhizes dans l'acquisition de phosphore par les arbres, à partir du pool de P organique et/ou du P minéral, serait en particulier très intéressante pour mieux comprendre comment le système maintient son niveau de P disponible. L'étude de la structure et de la dynamique des peuplements mycorhiziens et l'estimation des proportions de différents genres fongiques fonctionnels (ecto et endomycorhiziens, saprotrophes) permettrait une meilleure compréhension du fonctionnement du système sol-plante des TTCR. Par ailleurs, si les faibles intensités de colonisation par les champignons à arbuscules et les très faibles fréquences par les ectomycorhiziens étaient confirmées dans les sites de cette étude, l'inoculation artificielle à la

plantation, ou après formation des premières racines, pourrait être envisagée pour améliorer les rendements des parcelles.

La synthèse des données, par un indice unique de qualité des sols ou par un indice représentant une fonction précise (fertilité, activité biologique...), ne prend pas en compte toute la complexité des interactions entre les composants et les processus du sol, et comporte plusieurs niveaux de subjectivité dont il est difficile de s'affranchir. Les courbes de réponses principales donnent une bonne représentation graphique. Elles permettent à la fois de visualiser l'évolution du fonctionnement du sol sous différents usages et soulignent les indicateurs majeurs qui discriminent les différents sols. Cet outil, pourtant peu utilisé, est particulièrement adapté pour les suivis temporels de la qualité des sols. Cependant, comme pour les IQS, le choix des indicateurs reste une étape soumise à controverse (Hailu and Chambers 2012). Ces deux méthodes utilisées, IQS et PRS, reflètent la qualité du sol exprimée de manière comparative entre les quatre usages du sol sur une période de deux ans, et ne prennent pas en compte l'ensemble des fonctions des sols, ni l'intégralité des services rendus, mais fournissent des premiers éléments ou critères pour optimiser la gestion des sols.

Notre étude a permis d'identifier les paramètres chimiques, biologiques et fonctionnels des sols qui évoluent lors de la mise en place de TTCR dans un contexte local et sur des sols alluviaux calcaires, mais les résultats ne sont pas extrapolables directement à d'autres situations, et à une échelle plus large. L'étude des processus biogéochimiques, avec des méthodologies comparables, dans des situations plus contrastées, de sol, de climat, d'historique d'usages des terres..., donnerait une forte valeur ajoutée aux résultats car elle permettrait de mieux identifier les variables modifiées par les usages de celles des déterminants pédoclimatiques. En complément d'un suivi sur le long terme des trois sites de Semuy, Givry et Asfeld, car ils présentent l'avantage d'avoir été étudiés dès le début de la plantation, un nombre plus limité d'analyses pourraient être réalisées sur un réseau étendu de

sites cultivés en TTCR (F:B, Corg hydrosoluble à différentes profondeurs, CEC...). L'utilisation des réseaux de TTCR du FCBA, à l'échelle nationale, pourrait s'avérer d'un intérêt majeur pour ce type de recherche. Dans le cadre d'un réseau étendu, essayer de corréler les fonctions du sol (e.g activité biologique, fertilité...) avec les services écosystémiques (production/rendement, régulation de la qualité de l'eau...) représente un défi majeur pour valider les indicateurs fréquemment utilisés (tableau 1.1) et pour lier fonctionnement et qualité des sols.

Conclusion générale

Aucune étude n'avait, à notre connaissance, tenté de lier le cycle biologique des éléments nutritifs dans des TTCR avec des bioindicateurs de structure des communautés et d'activité biologique. Les relations entre la concentration en éléments nutritifs disponibles dans le sol, les caractéristiques des matières organiques, divers compartiments des cycles internes de l'écosystème sol-plante des TTCR et les indicateurs liés aux communautés microbiennes ont permis de mieux comprendre le fonctionnement des cycles biogéochimiques et les impacts de cette culture en contexte alluvial calcaire. Par ailleurs, notre étude apporte des éléments de construction et de discussion sur l'agrégation des données d'indicateurs de qualité des sols qui pourront servir à l'évaluation des services écosystémiques rendus par les sols. Cette thématique apparaît à la fois comme un champ de recherches important en science du sol, mais également comme une opportunité à saisir pour ouvrir un dialogue entre science et société et mettre en place des outils adaptés à une gestion des sols qui permette à la fois d'en optimiser l'utilisation et de les protéger.

Références Bibliographiques

A

- Adegbidi H, Volk T, White E, et al. (2001)** Biomass and nutrient removal by willow clones in experimental bioenergy plantations in New York State. *Biomass Bioenergy* 20:411, 399.
- Adegbidi HG, Briggs RD, Volk TA, et al. (2003)** Effect of organic amendments and slow-release nitrogen fertilizer on willow biomass production and soil chemical characteristics. *Biomass Bioenergy* 25:389–398.
- Adler A, Verwijst T, Aronsson P (2005)** Estimation and relevance of bark proportion in a willow stand. *Biomass Bioenerg* 29:102–113.
- Agreste Primeur (2011)** L'utilisation du territoire en 2010 Les paysages agricoles dominant toujours le territoire français. Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt
- AILE (2007)** Purification function of Short Rotation Willow Coppice Wilwater project LIFE04 ENV/FR/320 - summary of experimental results.
- Amelung W, Brodowski S, Sandhage-Hofmann A, Bol R (2008)** Combining biomarker with stable isotope analyses for assessing the transformation and turnover of soil organic matter. *Adv Agron* 100:155–250.
- Amichev B, Kurz W, Smyth C, Van Rees K (2012)** The carbon implications of large-scale afforestation of agriculturally marginal land with short-rotation willow in Saskatchewan. *GCB Bioenergy* 4:70–87.
- Ananyeva ND, Susyan EA, Chernova OV, et al. (2006)** The ratio of fungi and bacteria in the biomass of different types of soil determined by selective inhibition. *Microbiology* 75:702–707.
- Anderson I, Campbell C, Prosser J (2003)** Diversity of fungi in organic soils under a moorland – Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) gradient. *Environmental Microbiology* 5:1121–1132.
- Andreux F, Munier-Lamy C (1994)** Genèse et propriété des molécules humiques. Chapitre 6 dans Bonneau M, Souchier B: *Pédologie 2. Constituant et propriétés du sol*. Masson. Paris, pp 109–142
- Andrews S, Karlen D, Cambardella C (2004)** The Soil Management Assessment Framework: A quantitative soil quality evaluation method. *Soil Sci Soc Am J* 68:1945–1962.
- Andrews S, Karlen D, Mitchell J (2002)** A comparison of soil quality indexing methods for vegetable production systems in Northern California. *Agric Ecosyst Environ* 90:25–45.
- Annabi M, Houot S, Francou F, et al. (2007)** Soil Aggregate Stability Improvement with Urban Composts of Different Maturities. *Soil Sci Soc Am J* 71:413–423.

Aon M, Colaneri A (2001) II. Temporal and spatial evolution of enzymatic activities and physico-chemical properties in an agricultural soil. *Appl Soil Ecol* 18:255–270.

Arshad M, Lowery B, Grossman B (1996) Physical tests for monitoring soil quality. *Soil Science Society of America Special Publication* 123–141.

Arshad M, Martin S (2002) Identifying critical limits for soil quality indicators in agro-ecosystems. *Agr Ecosyst Environ* 88:153–160.

Attiwill P, Adams M (1993) Nutrient cycling in forests. *New Phytol* 124:561–582.

Augusto L, Ranger J, Binkley D, Rothe A (2002) Impact of several common tree species of European temperate forests on soil fertility. *Ann For Sci* 59:233–253.

B

Bailey V, Smith J, Bolton Jr. H (2002) Fungal-to-bacterial ratios in soils investigated for enhanced C sequestration. *Soil Biol Biochem* 34:997–1007.

Balaria A, Johnson C, Zhihong X (2009) Molecular-Scale Characterization of Hot-Water-Extractable Organic Matter in Organic Horizons of a Forest Soil. *Soil Sci Soc Am J* 73:812–821.

Balagus A, Bischoff W, Schwarz A, et al. (2012) Nitrogen fluxes during the initial stage of willows and poplars in short-rotation coppices. *Z Pflanzenernähr Bodenk* 175:729–738.

Balesdent J, Arrouays D, Chenu C, Feller C (2011) *Sol et environnement* 2ème édition chapitre 5 : Stockage et recyclage du carbone.

Balesdent J, Chenu C, Balabane M (2000) Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. *Soil and Tillage Research* 53:215–230.

Barriuso E (1985) Caractérisation des fractions organo-minérales et des constituants humiques d'un sol de pelouse subalpine. Thèse de doctorat de l'Université Henri-Poincaré (Nancy 1)

Bashkin M, Binkley D (1998) Changes in soil carbon following afforestation in Hawaii. *Ecology* 79:828–833.

Bastida F, Zsolnay A, Hernández T, García C (2008) Past, present and future of soil quality indices: A biological perspective. *Geoderma* 147:159–171.

Baum C, Eckhardt U, Hahn J, et al. (2013) Impact of poplar on soil organic matter quality and microbial communities in arable soils. *Plant Soil Environ* 59:95–100.

Baum C, Hryniewicz K (2006) Clonal and seasonal shifts in communities of saprotrophic microfungi and soil enzyme activities in the mycorrhizosphere of *Salix* spp. *Z Pflanzenernähr Bodenk* 169:481–487.

- Baum C, Hrynkiewicz K, Leinweber P, Meißner R (2006)** Heavy-metal mobilization and uptake by mycorrhizal and nonmycorrhizal willows (*Salix × dasyclados*). *Z Pflanzenernähr Bodenk* 169:516–522.
- Baum C, Leinweber P, Weih M, et al. (2009a)** Effects of short rotation coppice with willows and poplar on soil ecology. *Landbauforsch Volk* 59:183–196.
- Baum C, Toljander Y, Eckhardt K, Weih M (2009b)** The significance of host-fungus combinations in ectomycorrhizal symbioses for the chemical quality of willow foliage. *Plant Soil* 323:213–224.
- Baum C, Weih M, Verwijst T, Makeshin F (2002)** The effects of nitrogen fertilization and soil properties on mycorrhizal formation of *Salix viminalis*. *Forest Ecology and Management* 160:35–43.
- Baum S, Bolte A, Weih M (2012a)** Short Rotation Coppice (SRC) plantations provide additional habitats for vascular plant species in agricultural mosaic landscapes. *BioEnergy Res* 5:573–583.
- Baum S, Bolte A, Weih M (2012b)** High value of short rotation coppice plantations for phytodiversity in rural landscapes. *Glob Change Biol Bioenergy* 4:728–738.
- Baum S, Weih M, Busch G, et al. (2009)** The impact of Short Rotation Coppice plantations on phytodiversity. *Landbauforsch Volk* 59:163–170.
- Becklin KM, Pallo ML, Galen C (2012)** Willows indirectly reduce arbuscular mycorrhizal fungal colonization in understory communities. *Journal of Ecology* 100:343–351.
- Begley D, McCracken A, Dawson W, Watson S (2009)** Interaction in Short Rotation Coppice willow, *Salix viminalis* genotype mixtures. *Biomass Bioenergy* 33:163–173.
- Behar F, Beaumont V, Penteadó H (2001)** Rock-Eval 6 Technology: Performances and Developments. *Oil & Gas Science and Technology* 56:111–134.
- Bélanger N, Paré D, Bouchard M, Daoust G (2004)** Is the use of trees with superior growth a threat to soil nutrient availability? A case study with Norway spruce. *Can J Forest Res* 34:560–572.
- Bélanger V, Vanasse A, Parent D, et al. (2012)** Development of agri-environmental indicators to assess dairy farm sustainability in Quebec, Eastern Canada. *Ecological Indicators* 23:421–430.
- Bellamy P, Croxton P, Heard M, et al. (2009)** The impact of growing miscanthus for biomass on farmland bird populations. *Biomass Bioenergy* 33:191–199.
- Bending G, Putland C, Rayns F (2000)** Changes in microbial community metabolism and labile organic matter fractions as early indicators of the impact of management on soil biological quality. *Biol Fertil Soils* 31:78–84.

- Berg B, McClaugherty C (2003)** Plant Litter (Decomposition, Humus formation, Carbon sequestration), Springer, Berlin.
- Berhongaray G, Janssens I, King J, Ceulemans R (2013)** Fine root biomass and turnover of two fast-growing poplar genotypes in a short-rotation coppice culture. *Plant Soil* 373:269–283.
- Berndes G, Fredrikson F, Börjesson P (2004)** Cadmium accumulation and Salix-based phytoextraction on arable land in Sweden. *Agr Ecosyst Environ* 103:207–223.
- Berndes G, Hoogwijk M, van den Broek R (2003)** The contribution of biomass in the future global energy supply: a review of 17 studies. *Biomass Bioenergy* 25:1–28.
- Berner D, Marhan S, Keil D, et al. (2011)** Land-use intensity modifies spatial distribution and function of soil microorganisms in grasslands. *Pedobiologia* 54:341–351.
- Berthelin J, Andreux F, Munier-Lamy C (2011a)** Sol et environnement 2ème édition chapitre 2 : constituants originaux du sol: Réactivité et interactions. Dunod. Paris, pp 39–65
- Berthelin J, Girard M, Robert M (2011b)** Sol et environnement 2ème édition chapitre 36 : La ressource en sols : Menaces, nouveaux enjeux et mesure de protection, Dunod. Paris
- Berthelot A, Ranger J, Gelhaye D (2000)** Nutrient uptake and immobilization in a short-rotation coppice stand of hybrid poplars in north-west France. *Forest Ecol Manag* 128:167–179.
- Bestelmeyer B, Brown J, Havstad K, et al. (2003)** Development and Use of State-and-Transition Models for Rangelands. *J Range Manag* 56:114–126.
- Bhardwaj A, Jasrotia P, Hamilton S, Robertson G (2011)** Ecological management of intensively cropped agro-ecosystems improves soil quality with sustained productivity. *Agric Ecosyst Environ* 140:419–429.
- Bielinska E, Mocek-Plociniak A (2012)** Impact of the Tillage System on the Soil Enzymatic Activity. *Arch Environ Prot* 38:75–82.
- Birkhofer K, Bezemer TM, Bloem J, et al. (2008)** Long-term organic farming fosters below and aboveground biota: Implications for soil quality, biological control and productivity. *Soil Biol Biochem* 40:2297–2308.
- Bispo A (2013)** Concept et définition. Présentation de l'École Chercheur SolFIT: Evaluation des services fournis par les sols pour une prise en compte dans les développement territorial
- Bispo A, Blanchard E, Delmas A, Laval K (2011)** Sol et environnement 2ème édition chapitre 21: Indicateurs de la qualité des sols, Dunod. Paris
- Bispo A, Grand C, Galsomies L (2009)** Le programme ADEME –Bioindicateurs de qualité des sols”: Vers le développement et la validation d’indicateurs biologiques pour la protection des sols. *16:145–158.*

- Blecker S, Stillings L, Amacher M, et al. (2013)** Development and application of a soil organic matter-based soil quality index in mineralized terrane of the Western US. *Environ Earth Sci* 68:1887–1901.
- Block R, Rees K, Knight J (2006)** A Review of Fine Root Dynamics in Populus Plantations. *Agrofor Syst* 67:73–84.
- Blouin M, Hodson ME, Delgado EA, et al. (2013)** A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. *Eur J Soil Sci* 64:161–182.
- Boeckler G, Gershenzon J, Unsicker S (2011)** Phenolic glycosides of the Salicaceae and their role as anti-herbivore defenses. *Plant-Insect Interact* 72:1497–1509.
- Bohlen P, Scheu S, Hale C, et al. (2004)** Non-native invasive earthworms as agents of change in northern temperate forests. *Front Ecol Environ* 2:427–435.
- Boman U, Turnbull J (1997)** Integrated biomass energy systems and emissions of carbon dioxide. *Biomass and Bioenergy* 13:333–343.
- Bonneau M, Souchier B (1994)** *Pédologie Tome 2: Constituants et propriétés du sol*, Elsevier Masson.
- Börjesson P (1999)** Environmental effects of energy crop cultivation in Sweden—I: Identification and quantification. *Biomass Bioenergy* 16:137–154.
- Bossuyt H, Deneff K, Six J, et al. (2001)** Influence of microbial populations and residue quality on aggregate stability. *Appl Soil Ecol* 16:195–208.
- Bouché M (1972)** *Lombriciens de France, Ecologie et systématique*, I.N.R.A., Ann. zool. - écol. anim., numéro spécial.
- Bouché M (1977)** Stratégies lombriciennes. In: Lohm U, Persson T (eds) *Soil Org. Compon. Ecosyst.* pp 122–132
- Bourrelier P, Berthelin J (1998)** Contamination des sols pas les éléments en traces : les risques et leur gestion, Académie des sciences.
- Brandão M, Milà i Canals L, Clift R (2011)** Soil organic carbon changes in the cultivation of energy crops: Implications for GHG balances and soil quality for use in LCA. *Biomass and Bioenergy* 35:2323–2336.
- Brejda J, Moorman T, Karlen D, Dao T (2000)** Identification of Regional Soil Quality Factors and Indicators: I. Central and southern high plains. *Soil Sci Soc Am J* 64:2115–2124.
- Briske D, Fuhlendorf S, Smeins F (2003)** Vegetation dynamics on rangelands: a critique of the current paradigms. *J Appl Ecol* 40:601–614.
- Burkhard B, Kroll F, Nedkov S, Muller F (2012)** Mapping ecosystem service supply, demand and budgets. *Ecol Indic* 21:17–29.

Burns RG, Dick RP (2002) *Enzymes in the Environment. Activity, Ecology and Applications*, Marcel Dekker Inc.

Busse M, Cochran P, Barren J (1996) Changes in Ponderosa Pine Site Productivity following Removal of Understory Vegetation. *Soil Sci Soc Am J* 60:1614–1621.

C

Caldwell BA (2005) Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. *Pedobiologia* 49:637–644.

Cannell M (1989) Physiological basis of wood production: A review. *Scand J For Res* 4:459–490.

Carpenter S, Mooney H, Agard J, et al. (2009) Science for managing ecosystem services: Beyond the Millennium Ecosystem Assessment. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106:1305–1312.

Carrie J, Sanei H, Stern G (2012) Standardisation of Rock–Eval pyrolysis for the analysis of recent sediments and soils. *Organic Geochemistry* 46:38–53.

Carson J, Gleeson D, Clipson N, Murphy D (2010) Afforestation alters community structure of soil fungi. *Fungal Biol* 114:580–584.

Carter M (2002) Soil Quality for Sustainable Land Management: Organic matter and aggregation interactions that maintain soil functions. *Agron J* 94:38–47.

Cébron A, Beguiristain T, Faure P, et al. (2009) Influence of vegetation on the in situ bacterial community and polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) degraders in aged PAH-contaminated or thermal-desorption-treated soil. *Appl Biochem Microbiol* 75:6322–6330.

Cébron A, Cortet J, Criquet S, et al. (2011) Biological functioning of PAH-polluted and thermal desorption-treated soils assessed by fauna and microbial bioindicators. *Res Microbiol* 162:896–907.

Cecillon L (2008) Quels indicateurs pour évaluer la qualité de sols forestiers soumis à des contraintes environnementales fortes ? Thèse de doctorat de l'Université Joseph Fourier

Cécillon L, Cassagne N, Czarnes S, et al. (2009) Predicting soil quality indices with near infrared analysis in a wildfire chronosequence. *Sci Total Environ* 407:1200–1205.

Ceulemans R, Deraedt W (1999) Production physiology and growth potential of poplars under short-rotation forestry culture. *Forest Ecol Manag* 121:9–23.

- Chaer G, Myrold D, Bottomley P (2009)** A soil quality index based on the equilibrium between soil organic matter and biochemical properties of undisturbed coniferous forest soils of the Pacific Northwest. *Soil Biol Biochem* 41:822–830.
- Chan K (2001)** An overview of some tillage impacts on earthworm population abundance and diversity — implications for functioning in soils. *Soil Till Res* 57:179–191.
- Chan K, Barchia I (2007)** Soil compaction controls the abundance, biomass and distribution of earthworms in a single dairy farm in south-eastern Australia. *Soil Tillage Res* 94:75–82.
- Chen CR, Condon LM, Davis MR, Sherlock RR (2000)** Effects of afforestation on phosphorus dynamics and biological properties in a New Zealand grassland soil. *Plant Soil* 220:151–163.
- Chen CR, Condon LM, Xu ZH (2008)** Impacts of grassland afforestation with coniferous trees on soil phosphorus dynamics and associated microbial processes: A review. *Forest Ecol Manag* 255:396–409.
- Chenu C (2013)** La stabilisation des matières organiques dans les sols Où en est t'on? Webinaire AFES, <http://vimeo.com/59411688>
- Chenu C, Barriuso E (2013)** Evaluation des services fournis par les sols, pour une prise en compte dans le développement territorial. Présentation du LABEX BASC
- Chenu C, Le Bissonnais Y, Arrouays D (2000)** Organic Matter Influence on Clay Wettability and Soil Aggregate Stability. *Soil Sci Soc Am J* 64:1479–1486.
- Chenu C, Plante A (2006)** Clay-sized organo-mineral complexes in a cultivation chronosequence: revisiting the concept of the “primary organo-mineral complex.” *Eur J Soil Sci* 57:596–607.
- Chenu C, Stotzky G (2001)** Interactions between microorganisms and soil particles: an overview. In: Huang P, Bollag J, Senesi N (eds) *Interactions between soil particles and microorganisms: impact on the terrestrial ecosystem*. New-York, pp 3–40
- Cherubini F, Bird N, Cowie A, et al. (2009)** Energy- and greenhouse gas-based LCA of biofuel and bioenergy systems: Key issues, ranges and recommendations. *Resources, Conservation and Recycling* 53:434–447.
- Christ M, Peterjohn W, Cumming J, Adams M (2002)** Nitrification potentials and landscape, soil and vegetation characteristics in two Central Appalachian watersheds differing in NO₃-export. *Forest Ecol Manag* 159:145–158.
- Christensen B (2001)** Physical fractionation of soil and structural and functional complexity in organic matter turnover. *Eur J Soil Sci* 52:345–353.
- Clinch R, Thevathasan N, Gordon A, et al. (2009)** Biophysical interactions in a short rotation willow intercropping system in southern Ontario, Canada. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 131:61–69.

- Cluzeau D, Guernion M, Chaussod R, et al. (2012)** Integration of biodiversity in soil quality monitoring: Baselines for microbial and soil fauna parameters for different land-use types. *Eur J Soil Biol* 49:63–72.
- Coleman D, Whitman W (2005)** Linking species richness, biodiversity and ecosystem function in soil systems. *Pedobiologia* 49:479–497.
- Commission Européenne (2012)** Rapport de la commission au parlement européen, au conseil, au comité économique et social européen et au comité des régions Mise en oeuvre de la stratégie thématique en faveur de la protection des sols et activités en cours.
- Cooke C, Whipps J (1993)** *Ecophysiology of Fungi*. Rodderic C
- Cornejo P, Azcón-Aguilar C, Miguel Barea J, Ferrol N (2004)** Temporal temperature gradient gel electrophoresis (TTGE) as a tool for the characterization of arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiology Letters* 241:265–270.
- Corneo P, Pellegrini A, Cappellin L, et al. (2013)** Microbial community structure in vineyard soils across altitudinal gradients and in different seasons. *FEMS Microbiol Ecol* 84:588–602.
- Costa P, Souza-Motta C, Malosso E (2012)** Diversity of filamentous fungi in different systems of land use. *Agroforest Syst* 85:195–203.
- Cowie A, Smith P, Johnson D (2006)** Does soil loss in biomass production systems negate the greenhouse benefits of bioenergy? 979–1002.
- Creamer R, Brennan F, Fenton O, et al. (2010)** Implications of the proposed Soil Framework Directive on agricultural systems in Atlantic Europe – a review. *Soil Use Manag* 26:198–211.
- Criquet S (2002)** Measurement and characterization of cellulase activity in sclerophyllous forest litter. *Journal of Microbiological Methods* 50:165–173.
- Crow P, Houston T (2004)** The influence of soil and coppice cycle on the rooting habit of short rotation poplar and willow coppice. *Biomass and Bioenergy* 26:497–505.
- Crow S, Lajtha K, Filley T, et al. (2009)** Sources of plant-derived carbon and stability of organic matter in soil: implications for global change. *Global Change Biology* 15:2003–2019.
- Cuendet G (1995)** Identification des lombriciens de Suisse. *Vauderens* 19p.
- Curry JP, Byrne D, Schmidt O (2002)** Intensive cultivation can drastically reduce earthworm populations in arable land. *Eur J Soil Biol* 38:127–130.

D

- Daily G, Matson P, Vitousek P (1997)** Nature's Services Societal Dependence on Natural Ecosystems : Chapter 7 Ecosystem services supplied by soil, Island Press Washington, DC 20009. Gretchen C. Daily
- Dalle A (2009)** Communication orale.
- Dauber J, Jones M, Stout J (2010)** The impact of biomass crop cultivation on temperate biodiversity. *GCB Bioenergy* 2:289–309.
- De Forest J (2009)** The influence of time, storage temperature, and substrate age on potential soil enzyme activity in acidic forest soils using MUB-linked substrates and l-DOPA. *Soil Biol Biochem* 41:1180–1186.
- De Groot R, Alkemade R, Braat L, et al. (2010)** Challenges in integrating the concept of ecosystem services and values in landscape planning, management and decision making. *Ecological Complexity* 7:260–272.
- De Groot R, Wilson M, Boumans R (2002)** A typology for the classification, description and valuation of ecosystem functions, goods and services. *Ecological Economics* 41:393–408.
- De Neergaard A, Porter J, Gorissen A (2002)** Distribution of assimilated carbon in plants and rhizosphere soil of basket willow (*Salix viminalis* L.). *Plant and Soil* 245:307–314.
- De Vries FT, Bloem J, van Eekeren N, et al. (2007)** Fungal biomass in pastures increases with age and reduced N input. *Soil Biol Biochem* 39:1620–1630.
- De Vries FT, Hoffland E, van Eekeren N, et al. (2006)** Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen management. *Soil Biol Biochem* 38:2092–2103.
- Degens B, Schipper L, Sparling G, Duncan L (2001)** Is the microbial community in a soil with reduced catabolic diversity less resistant to stress or disturbance? *Soil Biol Biochem* 33:1143–1153.
- Denef K, Six J, Merckx R, Paustian K (2004)** Carbon Sequestration in Microaggregates of No-Tillage Soils with Different Clay Mineralogy. *Soil Sci Soc Am J* 68:1935–1944.
- Dick R, Breakwell D, Turco R (1996)** Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In: Doran J, Jones A (eds) *Methods Assess. Soil Qual.* pp 247–271
- Dickinson N, Baker A, Doronila A, et al. (2009)** Phytoremediation of inorganics: Realism and synergies. *International Journal of Phytoremediation* 11:97–114.
- Dickinson N, Pulford I (2005)** Cadmium phytoextraction using short-rotation coppice *Salix*: the evidence trail. *Environment International* 31:609–613.

- Dickmann D, Pregitzer K (1992)** The structure and dynamics of woody plant root systems. In *Ecophysiology of Short Rotation Forest Crops*. In: Mitchell C, Ford-Robertson J, Hinckley T, Sennerby-Forsse L (eds) Elsevier Applied Science. London, New York, pp 95–116
- Diemer A, Labrune S (2007)** L'écologie industrielle : quand l'écosystème industriel devient un vecteur du développement durable. *Développement durable et territoire*
- Dimitriou I, Aronsson P (2011)** Wastewater and sewage sludge application to willows and poplars grown in lysimeters—Plant response and treatment efficiency. *Biomass and Bioenergy* 35:161–170.
- Dimitriou I, Baum C, Baum S, et al. (2009)** The impact of Short Rotation Coppice (SRC) cultivation on the environment. *Landbauforsch Volk* 59:159.
- Dimitriou I, Eriksson J, Adler A, et al. (2006)** Fate of heavy metals after application of sewage sludge and wood–ash mixtures to short-rotation willow coppice. *Environmental Pollution* 142:160–169.
- Dimitriou I, Rosenqvist H, Berndes G (2011)** Slow expansion and low yields of willow short rotation coppice in Sweden; implications for future strategies. *Biomass and Bioenergy* 35:4613–4618.
- Disnar J, Guillet B, Keravis D, et al. (2003)** Soil organic matter (SOM) characterization by Rock-Eval pyrolysis: scope and limitations. *Organic Geochemistry* 34:327–343.
- Ditzler C, Tugel A (2002)** Soil Quality Field Tools: Experiences of USDA-NRCS Soil Quality Institute. *Agron J* 94:33–38.
- Dominati E, Patterson M, Mackay A (2010)** A framework for classifying and quantifying the natural capital and ecosystem services of soils. *Ecological Economics* 69:1858–1868.
- Dommergues Y, Mangenot F (1970)** *Ecologie microbienne du sol*, Masson et Cie.
- Donnelly A, Styles D, Fitzgerald J, Finnan J (2011)** A proposed framework for determining the environmental impact of replacing agricultural grassland with *Miscanthus* in Ireland. *GCB Bioenergy* 3:247–263.
- Doran J, Parkin T (1994)** Defining and Assessing Soil Quality. *Defining Soil Quality For a Sustainable Environment* 3–21.
- Dowell R, Gibbins D, Rhoads J, Pallardy S (2009)** Biomass production physiology and soil carbon dynamics in short-rotation-grown *Populus deltoides* and *P. deltoides* × *P. nigra* hybrids. *Forest Ecol Manag* 257:134–142.
- Drinkwater L, Cambardella C, Reeder J, Rice C (1996)** Potentially mineralizable nitrogen as an indicator of biologically active soil nitrogen. *Methods for assessing soil quality* 217–229.
- Dubois M, Gilles K, Hamilton J, et al. (1956)** Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal Chem* 28:350–356.

Duchaufour P (2004) Introduction à la science du sol 6^{ème} édition, Dunod.

Dufumier M, Féret S, Delachapelle Q (2013) Agriculture: Peut-on concilier compétitivité et environnement? Présentation, ENSAIA, Nancy

Dungait J, Hopkins D, Gregory A, Whitmore A (2012) Soil organic matter turnover is governed by accessibility not recalcitrance. *Glob Change Biol* 18:1781–1796.

E

Edwards CA, Bohlen PJ (1996) *Biology and Ecology of Earthworms* Third edition, Chapman&Hall.

Elmqvist T, Folke C, Nystrom M, et al. (2003) Response Diversity, Ecosystem Change, and Resilience. *Front Ecol Environ* 1:488–494.

Embacher A, Zsolnay A, Gattinger A, Munch J (2007) The dynamics of water extractable organic matter (WEOM) in common arable topsoils: I. Quantity, quality and function over a three year period. *Geoderma* 139:11–22.

Enfors E, Gordon L (2007) Analysing resilience in dryland agro-ecosystems: a case study of the Makanya catchment in Tanzania over the past 50 years. *Land Degrad Dev* 18:680–696.

Engel S, Pagiola S, Wunder S (2008) Designing payments for environmental services in theory and practice: An overview of the issues. *Ecological Economics* 65:663–674.

Enríquez S, Duarte C, Sand-Jensen K (1993) Patterns in decomposition rates among photosynthetic organisms: the importance of detritus C:N:P content. *Oecologia* 94:457–471.

Ens J, Farrell R, Bélanger N (2009) Rapid biomass estimation using optical stem density of willow (*Salix* spp.) grown in short rotation. *Biomass and Bioenergy* 33:174–179.

Ens J, Farrell R, Bélanger N (2013) Early Effects of Afforestation with Willow (*Salix purpurea*, –Hotel”) on Soil Carbon and Nutrient Availability. *Forest* 137–154.

Ericsson T (1994) Nutrient cycling in energy forest plantations. *Biomass Bioenergy* 6:115–121.

Erkman S (2004) Vers une écologie industrielle, Diffusion Charles Léopold Mayer.

Ernest S, Brown J (2001) Homeostasis and Compensation: The Role of Species and Resources in Ecosystem Stability. *Ecology* 82:2118–2132.

Ernst G, Emmerling C (2009) Impact of five different tillage systems on soil organic carbon content and the density, biomass, and community composition of earthworms after a ten year period. *Eur J Soil Biol* 45:247–251.

Espitalié J, Laporte J, Madec M, et al. (1977) Méthode rapide de caractérisation des roches mères, de leur potentiel pétrolier et de leur degré d'évolution. *Revue de l'institut Français du Pétrole* 32:23–42.

F

Faasch R, Patenaude G (2012) The economics of short rotation coppice in Germany. *Biomass Bioenerg* 45:27–40.

Faber J, Van Der Pol J, Rutgers M (2006) Land use and soil quality: ecological suitability for use. Database for distributed landscape classification and land use data of selected distributors based on scientific evidence for importance. Deliverable D.1.1.4., Integrated Project "NOMIRACLE" in EU 6th Framework Programme, project.

Faber J, Van Wensem J (2012) Elaborations on the use of the ecosystem services concept for application in ecological risk assessment for soils. *Sci Total Environ* 415:3–8.

Failing L, Gregory R (2003) Ten common mistakes in designing biodiversity indicators for forest policy. *Journal of Environmental Management* 68:121–132.

Falkowski P, Fenchel T, Delong E (2008) The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles. *Science* 320:1034–1039.

Fang S, Xie B, Liu J (2008) Soil nutrient availability, poplar growth and biomass production on degraded agricultural soil under fresh grass mulch. *Forest Ecology and Management* 255:1802–1809.

FAO (2002) La Séquestration du carbone dans le sol pour une meilleure gestion des terres rapport basé sur le travail de Michel Robert. 59.

FAO (2010) Global Forest Resources Assessment 2010 Main report. 163.

Faure P, Schlepp L, Mansuy-Huault L, et al. (2006) Aromatization of organic matter induced by the presence of clays during flash pyrolysis-gas chromatography–mass spectrometry (PyGC–MS): A major analytical artifact. *J Anal Appl Pyrolysis* 75:1–10.

Feix I, Bispo A, Grand C, Galsomiès L (2012) Bioindicateurs pour la caractérisation des sols, Présentation des Journée Technique Nationale, ADEME, Paris.

Feller C, Chenu C (2012) Les inter-actions bio-organo-argileuses et la stabilisation du carbone dans les sols Aperçu historique. *EGS* 19:235 – 248.

Felske A, Akkermans A, De Vos W (1998) Quantification of 16S rRNAs in complex bacterial communities by multiple competitive reverse transcription PCR in temperature gradient gel electrophoresis fingerprints. *Appl Environ Microbiol* 64:4581–4587.

- Fioretto A, Di Nardo C, Papa S, Fuggi A (2005)** Lignin and cellulose degradation and nitrogen dynamics during decomposition of three leaf litter species in a Mediterranean ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry* 37:1083–1091.
- Firbank L (2008)** Assessing the Ecological Impacts of Bioenergy Projects. *BioEnergy Res* 1:12–19.
- Fischer M, Trnka M, Kucera J, Zalud Z (2010)** Soil water availability in a short rotation poplar coppice (*Populus nigra* × *P. maximowiczii*) in Czech-Moravian Highlands. *Folia Oecologica* 37:23–34.
- Fischerová Z, Tlustoš P, Jiřina S, Kornelie S (2006)** A comparison of phytoremediation capability of selected plant species for given trace elements. *Environmental Pollution* 144:93–100.
- Fisher R (1936)** The use of multiple measurements in taxonomic problems. *Annals of Eugenics* 7:179–188.
- Floch C, Alarcon-Gutiérrez E, Criquet S (2007)** ABTS assay of phenol oxidase activity in soil. *J Microbiol Meth* 71:319–324.
- Foley J, DeFries R, Asner G, et al. (2005)** Global Consequences of Land Use. *Science* 309:570–574.
- Folin O, Ciocalteu V (1927)** On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal of Biological Chemistry* 73:627–650.
- Folke C, Carpenter S, Walker B, et al. (2004)** Regime shifts, resilience, and biodiversity in ecosystem management. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 35:557–581.
- Fortier J, Truax B, Gagnon D, Lambert F (2013)** Root biomass and soil carbon distribution in hybrid poplar riparian buffers, herbaceous riparian buffers and natural riparian woodlots on farmland. *SpringerPlus* 2:539.
- Fox TR (2000)** Sustained productivity in intensively managed forest plantations. *For Ecol Manag* 138:187–202.
- Frampton G, Jaensch S, Scott-Fordsmand J (2006)** Effects of pesticides on soil invertebrates in laboratory studies: a review and analysis using species sensitivity distributions. *Environ Toxicol Chem* 25:2480–2489.
- Franca J, Borrás S (2013)** Land concentration, land grabbing and people's struggles in Europe. Published by the Transnational Institute (TNI) for European Coordination Via Campesina and Hands off the Land network. 236.
- Franzluebbers A, Hons F, Zuberer D (1994)** Long-Term Changes in Soil Carbon and Nitrogen Pools in Wheat Management Systems. *Soil Sci Soc Am J* 58:1639–1645.
- Frey S, Elliott E, Paustian K (1999)** Bacterial and fungal abundance and biomass in conventional and no-tillage agroecosystems along two climatic gradients. *Soil Biol Biochem* 31:573–585.

Frey-Klett P, Chavatte M, Clause M, et al. (2005) Ectomycorrhizal symbiosis affects functional diversity of rhizosphere fluorescent pseudomonads. *New Phytologist* 165:317–328.

Friis K, Reddersen J, Petersen J (1999) Planting SRC willow on arable fields: Effects on earthworm fauna. 105:71–78.

G

Gamborg C, Millar K, Shortall O, Sandøe P (2012) Bioenergy and Land Use: Framing the Ethical Debate. *J Agric Environ Ethics* 25:909–925.

Garcia J, Wortmann C, Mamo M, et al. (2007) One-Time Tillage of No-Till: Effects on nutrients, mycorrhizae, and phosphorus uptake. *Agron J* 99:1093–1103.

García-Orenes F, Guerrero C, Roldán A, et al. (2010) Soil microbial biomass and activity under different agricultural management systems in a semiarid Mediterranean agroecosystem. *Soil Tillage Res* 109:110–115.

Gardes M, Bruns T (1993) ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes--application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol Ecol* 2:113–118.

Garrigues E, Corson M, Angers D, et al. (2012) Soil quality in Life Cycle Assessment: Towards development of an indicator. *Ecol Indic* 18:434–442.

Gavaland A (1998) Programme de Recherche ADEME - INRA sur les Taillis à Courte Rotation de peuplier - Convention ADEME 4.01.0032 - Rapport d'avancement des travaux 1998. 38.

Gehring C, Mueller R, Whitham T (2006) Environmental and genetic effects on the formation of ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal associations in cottonwoods. *Oecologia* 149:158–164.

Gessner M, Swan C, Dang C, et al. (2010) Diversity meets decomposition. *Trends Ecol Evol* 25:372–380.

Ghani A, Dexter M, Perrott K (2003) Hot-water extractable carbon in soils: a sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation. *Soil Biology and Biochemistry* 35:1231–1243.

Giacometti C, Demyan M, Cavani L, et al. (2013) Chemical and microbiological soil quality indicators and their potential to differentiate fertilization regimes in temperate agroecosystems. *Appl Soil Ecol* 64:32–48.

Girard M, Walter C, Rémy J, et al. (2011) *Sols et environnement* 2ème édition, Dunod. Paris

Gobat J, Aragno M, Matthey W (2010) *Le sol vivant Bases de pédologie - Biologie des sols*, PPUR Presses polytechniques.

- Godbold D, Hoosbeek M, Lukac M, et al. (2006)** Mycorrhizal Hyphal Turnover as a Dominant Process for Carbon Input into Soil Organic Matter. *Plant Soil* 281:15–24.
- Goglio P, Owende PMO (2009)** A screening LCA of short rotation coppice willow (*Salix* sp.) feedstock production system for small-scale electricity generation. *Biosystems Engineering* 103:389–394.
- Gomez E, Pioli R, Conti M (2007)** Fungal abundance and distribution as influenced by clearing and land use in a vertic soil of Argentina. *Biol Fertil Soils* 43:373–377.
- Gonçalves J, Stape J, Laclau J, et al. (2004)** Silvicultural effects on the productivity and wood quality of eucalypt plantations. *Forest Ecology and Management* 193:45–61.
- Gordon L, Peterson G, Bennett E (2008)** Agricultural modifications of hydrological flows create ecological surprises. *Trends Ecol Evol* 23:211–219.
- Graham M, Haynes R, Meyer J (2002)** Soil organic matter content and quality: effects of fertilizer applications, burning and trash retention on a long-term sugarcane experiment in South Africa. *Soil Biology and Biochemistry* 34:93–102.
- Grandy A, Robertson G (2006)** Aggregation and Organic Matter Protection Following Tillage of a Previously Uncultivated Soil. *Soil Sci Soc Am J* 70:1398–1406.
- Green V, Stott D, Diack M (2006)** Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: Optimization for soil samples. *Soil Biol Biochem* 38:693–701.
- Greenfield L, Gregorich E, van Kessel C, et al. (2013)** Acid hydrolysis to define a biologically-resistant pool is compromised by carbon loss and transformation. *Soil Biol Biochem* 64:122–126.
- Gregorich E, Carter M, Angers D, et al. (1994)** Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. *Can J Soil Sci* 74:367–385.
- Griffiths B, Philippot L (2013)** Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. *FEMS Microbiol Rev* 37:112–129.
- Griffiths B, Ritz K, Bardgett R, et al. (2000)** Ecosystem response of pasture soil communities to fumigation-induced microbial diversity reductions: an examination of the biodiversity–ecosystem function relationship. *Oikos* 90:279–294.
- Griffiths B, Ritz K, Wheatley R, et al. (2001)** An examination of the biodiversity–ecosystem function relationship in arable soil microbial communities. *Soil Biol Biochem* 33:1713–1722.
- Grigal D, Berguson W (1998)** Soil carbon changes associated with short-rotation systems. *Biomass Bioenergy* 14:371–377.
- Grogan P, Matthews R (2002)** A modelling analysis of the potential for soil carbon sequestration under short rotation coppice willow bioenergy plantations. *Soil Use and Management* 18:175–183.

Guo L, Gifford R (2002) Soil carbon stocks and land use change: a meta analysis. *Glob Chang Biol* 8:345–360.

Guo L, Sims R, Horne D (2006) Biomass production and nutrient cycling in Eucalyptus short rotation energy forests in New Zealand: II. Litter fall and nutrient return. *Biomass Bioenerg* 30:393–404.

Güsewell S, Gessner M (2009) N : P ratios influence litter decomposition and colonization by fungi and bacteria in microcosms. *Funct Ecol* 23:211–219.

H

Hailu A, Chambers R (2012) A Luenberger soil-quality indicator. *J Prod Anal* 38:145–154.

Hammer D, Kayser A, Keller C (2003) Phytoextraction of Cd and Zn with *Salix viminalis* in field trials. *Soil Use and Management* 19:187–192.

Hammer D, Keller C (2002) Changes in the Rhizosphere of Metal-Accumulating Plants Evidenced by Chemical Extractants. *J Environ Qual* 31:1561–1569.

Hansen E (1993) Soil carbon sequestration beneath hybrid poplar plantations in the North Central United States. *Biomass Bioenerg* 5:431–436.

Harinikumar K, Bagyaraj D (1994) Potential of earthworms, ants, millipedes, and termites for dissemination of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Biol Fertil Soils* 18:115–118.

Hashimoto Y, Higuchi R (2003) Ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal colonization of two species of floodplain willows. *Mycoscience* 44:339–343.

Havlicek E (2012) Soil biodiversity and bioindication: From complex thinking to simple acting. *European Journal of Soil Biology* 49:80–84.

Hayashi T, Tahara S, Ohgushi T (2005) Genetically-controlled leaf traits in two chemotypes of *Salix sachalinensis* Fr. Schm (Salicaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 33:27–38.

Haynes R (2005) Labile organic matter fractions as central components of the quality of agricultural soils: An overview. *Adv Agron* 85:221–268.

Hedde M, van Oort F, Renouf E, et al. (2013) Dynamics of soil fauna after plantation of perennial energy crops on polluted soils. *Appl Soil Ecol* 66:29–39.

Heger T, Imfeld G, Mitchell E (2012) Special issue on “Bioindication in soil ecosystems”: Editorial note. *European Journal of Soil Biology* 49:1–4.

Heilman P, Ekuan G, Fogle D (1994) Above- and below-ground biomass and fine roots of 4-year-old hybrids of *Populus trichocarpa* × *Populus deltoides* and parental species in short-rotation culture. *Can J For Res* 24:1186–1192.

- Heinemeyer A, Ridgway K, Edwards E, et al. (2004)** Impact of soil warming and shading on colonization and community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in roots of a native grassland community. *Global Change Biology* 10:52–64.
- Heinsoo K, Merilo E, Petrovits M, Koppel A (2009)** Fine root biomass and production in a *Salix viminalis* and *Salix dasyclados* plantation. 1:27–37.
- Heiska S, Rousi M, Turtola S, et al. (2005)** The effect of genotype and cultivation method on the total salicylate yield of dark-leaved willows (*Salix myrsinifolia*). *Planta Med* 71:1139, 1134.
- Helgason T, Daniell T, Husband R, et al. (1998)** Ploughing up the wood-wide web? *Nature* 394:431–431.
- Hellebrand H, Strähle M, Scholz V, Kern J (2010)** Soil carbon, soil nitrate, and soil emissions of nitrous oxide during cultivation of energy crops. *Nutr Cycl Agroecosyst* 87:175–186.
- Heller M, Keoleian G, Volk T (2003)** Life cycle assessment of a willow bioenergy cropping system. *Biomass and Bioenergy* 25:147–165.
- Herrick J, Brown J, Tugel A, et al. (2002)** Application of Soil Quality to Monitoring and Management. *Agron J* 94:3–11.
- Hetényi M, Nyilas T, Sajgó C, Brukner-Wein A (2006)** Heterogeneous organic matter from the surface horizon of a temperate zone marsh. *Organic Geochemistry* 37:1931–1942.
- Hill T, Walsh K, Harris J, Moffett B (2003)** Using ecological diversity measures with bacterial communities. *FEMS Microbiol Ecol* 43:1–11.
- Hill TCJ, Walsh KA, Harris JA, Moffett BF (2003)** Using ecological diversity measures with bacterial communities. *FEMS Microbiol Ecol* 43:1–11.
- Hladyz S, Gessner M, Giller P, et al. (2009)** Resource quality and stoichiometric constraints on stream ecosystem functioning. *Freshw Biol* 54:957–970.
- Hofmann-Schielle C, Jug A, Makeschin F, Rehfuss K (1999)** Short-rotation plantations of balsam poplars, aspen and willows on former arable land in the Federal Republic of Germany. I. Site–growth relationships. *Forest Ecol Manag* 121:41–55.
- Hölscher D, Schade E, Leuschner C (2001)** Effects of coppicing in temperate deciduous forests on ecosystem nutrient pools and soil fertility. *Basic Appl Ecol* 2:155–164.
- Hoogwijk M, Faaij A, van den Broek R, et al. (2003)** Exploration of the ranges of the global potential of biomass for energy. *Biomass Bioenergy* 25:119–133.
- Hooper D, Bignell D, Brown V, et al. (2000)** Interactions between Aboveground and Belowground Biodiversity in Terrestrial Ecosystems: Patterns, Mechanisms, and Feedbacks. *BioScience* 50:1049–1061.

Hrynkiewicz K, Ciesielska A, Haug I, Baum C (2010) Ectomycorrhiza formation and willow growth promotion as affected by associated bacteria: role of microbial metabolites and use of C sources. *Biology and Fertility of Soils* 46:139–150.

Hrynkiewicz K, Dabrowska G, Baum C, et al. (2012) Interactive and Single Effects of Ectomycorrhiza Formation and *Bacillus cereus* on Metallothionein MT1 Expression and Phytoextraction of Cd and Zn by Willows. *Water Air Soil Pollut* 223:957–968.

Hrynkiewicz K, Toljander Y, Baum C, et al. (2012) Correspondence of ectomycorrhizal diversity and colonisation of willows (*Salix* spp.) grown in short rotation coppice on arable sites and adjacent natural stands. *Mycorrhiza* 22:603–613.

Huntington T (1995) Carbon Sequestration in an Aggrading Forest Ecosystem in the Southeastern USA. *Soil Sci Soc Am J* 59:1459–1467.

I

IEA (2012a) Key World Energy Statistics 2011, report of the International Energy Agency. 80.

IEA (2012b) World Energy Outlook 2012. International Energy Agency 690.

Imaz M, Virto I, Bescansa P, et al. (2010) Soil quality indicator response to tillage and residue management on semi-arid Mediterranean cropland. *Soil and Tillage Research* 107:17–25.

Insam H, Mitchell C, Dormaar J (1991) Relationship of soil microbial biomass and activity with fertilization practice and crop yield of three ultisols. *Soil Biol Biochem* 23:459–464.

Isebrands J, Host G, Bollmark L, et al. (1996) A strategy for process modelling of short-rotation *Salix* coppice plantations. *Biomass and Bioenergy* 11:245–252.

J

Jackson M, Attwood P (1996) Roots of willow (*Salix viminalis* L.) show marked tolerance to oxygen shortage in flooded soils and in solution culture. *Plant Soil* 187:37–45.

Jandl G, Baum C, Blumschein A, Leinweber P (2012) The impact of short rotation coppice on the concentrations of aliphatic soil lipids. *Plant and Soil* 350:163–177.

Janzen H, Campbell C, Brandt S, et al. (1992) Light-Fraction Organic Matter in Soils from Long-Term Crop Rotations. *Soil Sci Soc Am J* 56:1799–1806.

Jobbagy E, Jackson R (2000) The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation. *Ecol Appl* 10:423–436.

- Johnsen K, Jacobsen C, Torsvik V, Sørensen J (2001)** Pesticide effects on bacterial diversity in agricultural soils – a review. *Biol Fertil Soils* 33:443–453.
- Jordan D, Kremer R., Bergfield W (1995)** Evaluation of microbial methods as potential indicators of soil quality in historical agricultural fields. *Biol Fertil Soils* 19:302, 297.
- Jørgensen U, Dalgaard T, Kristensen E (2005)** Biomass energy in organic farming—the potential role of short rotation coppice. *Biomass Bioenerg* 28:237–248.
- Jossart J (2003)** Développement de projets de démonstration de la filière taillis à très courte rotation pour la production d'énergie renouvelable en Wallonie. Convention Région wallonne – Direction Générale de l'Agriculture Rapport final, janvier 2003.
- Joussein E, Kruyts N, Righi D, et al. (2004)** Specific Retention of Radiocesium in Volcanic Ash Soils Devoid of Micaceous Clay Minerals. *Soil Sci Soc Am J* 68:313–319.
- Jug A, Hofmann-Schielle C, Makeschin F, Rehfuess K (1999a)** Short-rotation plantations of balsam poplars, aspen and willows on former arable land in the Federal Republic of Germany. II. Nutritional status and bioelement export by harvested shoot axes. *Forest Ecology and Management* 121:67–83.
- Jug A, Hofmann-Schielle C, Makeschin F, Rehfuess K. (1999b)** Short-rotation plantations of balsam poplars, aspen and willows on former arable land in the Federal Republic of Germany. II. Nutritional status and bioelement export by harvested shoot axes. *Forest Ecology and Management* 121:67–83.
- Jug A, Makeschin F, Rehfuess K, Hofmann-Schielle C (1999c)** Short-rotation plantations of balsam poplars, aspen and willows on former arable land in the Federal Republic of Germany. III. Soil ecological effects. *Forest Ecol Manag* 121:85–99.
- Julkunen-Tiitto R (1985)** Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *J Agric Food Chem* 33:213–217.

K

- Kahle P, Baum C, Boelcke B (2005)** Effect of afforestation on soil properties and mycorrhizal formation. *Pedosphere* 15:754–760.
- Kahle P, Baum C, Boelcke B, et al. (2010)** Vertical distribution of soil properties under short-rotation forestry in Northern Germany. *Z Pflanzenernähr Bodenk* 173:737–746.
- Kahle P, Hildebrand E, Baum C, Boelcke B (2007)** Long-term effects of short rotation forestry with willows and poplar on soil properties. *Arch Agron Soil Sci* 53:673–682.
- Kaiser H (1960)** The Application of Electronic Computers to Factor Analysis. *Educ Psychol Meas* 20:141–151.

- Karlen DL, Stott D (1994)** A framework for evaluating physical and chemical indicators of soil quality. *Soil Science Soc Amer* 35:53–72.
- Karlen DL, Mausbach MJ, Doran JW, et al. (1997)** Soil Quality: A Concept, Definition, And Framework For Evaluation (a Guest Editorial). *Soil Sci Soc Am J* 61:4–10.
- Keeney D, Nelson D (1987)** Nitrogen-Inorganic Forms. *Methods of Soil Analysis: Part 2, Chemical and Microbiological Properties*.
- Kennedy A, Papendick R (1995)** Microbial characteristics of soil quality. *J Soil Water Conserv* 50:243–248.
- Keoleian G, Volk T (2005)** Renewable energy from willow biomass crops: life cycle energy, environmental and economic performance. *Crit Rev Plant Sci* 24:385–406.
- Khasa PD, Chakravarty P, Robertson A, et al. (2002)** The mycorrhizal status of selected poplar clones introduced in Alberta. *Biomass Bioenerg* 22:99–104.
- Kiem R, Kögel-Knabner I (2003)** Contribution of lignin and polysaccharides to the refractory carbon pool in C-depleted arable soils. *Soil Biology and Biochemistry* 35:101–118.
- Kirchmann H, Andersson R (2001)** The Swedish System for Quality Assessment of Agricultural Soils. *Environ Monit Assess* 72:129–139.
- Kladivko E (2001)** Tillage systems and soil ecology. *Soil and Tillage Research* 61:61–76.
- Kleber M, Sollins P, Sutton R (2007)** A conceptual model of organo-mineral interactions in soils: self-assembly of organic molecular fragments into zonal structures on mineral surfaces. *Biogeochemistry* 85:9–24.
- Klose S, Tabatabai M (1999)** Urease activity of microbial biomass in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 31:205–211.
- Kögel-Knabner I, Kleber M (2011)** Mineralogical, Physicochemical, and Microbiological Controls on Soil Organic Matter Stabilization and Turnover. *Handbook of Soil Sciences*. CRC Press, pp 1–22
- Kopp R, Smart L, Maynard C (2001)** The development of improved willow clones for eastern North America. *Forest Chron* 77:287–292.
- Koske R, Gemma J (1989)** A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research* 92:486–488.
- Kowalchuk G, Gerards S, Woldendorp J (1997)** Detection and characterization of fungal infections of *Ammophila arenaria* (marram grass) roots by denaturing gradient gel electrophoresis of specifically amplified 18s rDNA. *Applied and Environmental Microbiology* 63:3858–3865.

Krull E, Swanston C, Skjemstad J, McGowan J (2006) Importance of charcoal in determining the age and chemistry of organic carbon in surface soils. *J Geophys Res* 111:G04001.

L

La Rosa D, Privitera R (2013) Characterization of non-urbanized areas for land-use planning of agricultural and green infrastructure in urban contexts. *Spec Issue Urban Ecosyst Serv* 109:94–106.

Labrecque M, Teodorescu T, Daigle S (1998) Early performance and nutrition of two willow species in short-rotation intensive culture fertilized with wastewater sludge and impact on the soil characteristics. *Can J For Res* 28:1621–1635.

Laclau J (2012) Une approche écosystémique du fonctionnement minéral des plantations forestières. *Habilitation à Diriger des Recherches, Nancy* 76.

Laganiere J, Angers D, Pare D (2010) Carbon accumulation in agricultural soils after afforestation: a meta-analysis. *Glob Change Biol* 16:439–453.

Lagerlöf J, Pålsson O, Arvidsson J (2011) Earthworms influenced by reduced tillage, conventional tillage and energy forest in Swedish agricultural field experiments. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science* 62:235–244.

Laird D (2008) The Charcoal Vision: A Win–Win–Win Scenario for Simultaneously Producing Bioenergy, Permanently Sequestering Carbon, while Improving Soil and Water Quality. *Agron J* 100:178–181.

Lal R (1997) Degradation and resilience of soils. *Philos T R Soc B* 352:997–1008.

Lal R (2003) Global Potential of Soil Carbon Sequestration to Mitigate the Greenhouse Effect. *Critical Reviews in Plant Sciences* 22:151–184.

Lal R (2004) Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma* 123:1–22.

Lal R (2006) Enhancing crop yields in the developing countries through restoration of the soil organic carbon pool in agricultural lands. *Land Degrad Dev* 17:197–209.

Lal R (2009) Challenges and opportunities in soil organic matter research. *European Journal of Soil Science* 60:158–169.

Langer V (2001) The potential of leys and short rotation coppice hedges as reservoirs for parasitoids of cereal aphids in organic agriculture. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 87:81–92.

Larionova A, Zolotareva B, Yevdokimov I, et al. (2011) Identification of labile and stable pools of organic matter in an agrogray soil. *Eurasian Soil Sci* 44:628–640.

- Larson W, Pierce F (1991)** Conservation and enhancement of soil quality. Vol.2: Technical Papers, Proceedings of the International
- Larson W, Pierce F (1994)** The dynamics of soil quality as a measure to sustainable management. 37–51.
- Lauber C, Strickland M, Bradford M, Fierer N (2008)** The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Spec Sect Enzym Environ Enzym Environ III* 40:2407–2415.
- Laurent F, Cébron A, Schwartz C, Leyval C (2012)** Oxidation of a PAH polluted soil using modified Fenton reaction in unsaturated condition affects biological and physico-chemical properties. *Chemosphere* 86:659–664.
- Laureysens I, Blust R, De Temmerman L, et al. (2004)** Clonal variation in heavy metal accumulation and biomass production in a poplar coppice culture: I. Seasonal variation in leaf, wood and bark concentrations. *Environmental Pollution* 131:485–494.
- Lavelle P (1981)** Stratégies de reproduction chez les vers de terre. 2:117–133.
- Lavelle P (2002)** Functional domains in soils. *Ecol Res* 17:441–450.
- Lavelle P, Spain A (2005)** *Soil Ecology*. Springer, Amsterdam
- Le Bissonnais Y, Cros-Cayot S, Gascuel-Oudou C (2002)** Topographic dependence of aggregate stability, overland flow and sediment transport. *Agronomie* 22:489–501.
- Lebrun J, Trinsoutrot-Gattin I, Vincelas-Akpa M, et al. (2012)** Assessing impacts of copper on soil enzyme activities in regard to their natural spatiotemporal variation under long-term different land uses. *Soil Biol Biochem* 49:150–156.
- Ledin S (1998)** Environmental consequences when growing short rotation forests in Sweden. *Biomass Bioenerg* 15:49–55.
- Leemans R, van Amstel A, Battjes C, et al. (1996)** The land cover and carbon cycle consequences of large-scale utilizations of biomass as an energy source. *Global Environmental Change* 6:335–357.
- Legendre P, Legendre L (1998)** *Numerical Ecology*, Elsevier. 852.
- Lehmann A, Stahr K (2010)** The potential of soil functions and planner-oriented soil evaluation to achieve sustainable land use. *J Soils Sediments* 10:1092–1102.
- Leinweber P, Jandl G, Baum C, et al. (2008)** Stability and composition of soil organic matter control respiration and soil enzyme activities. *Spec Sect Funct Microb Ecol Mol Approaches Microb Ecol Microb Habitats 18th World Congr Soil Sci* 40:1496–1505.
- Lemus R, Lal R (2005)** Bioenergy Crops and Carbon Sequestration. *Crit Rev Plant Sci* 24:1–21.

- Leroy B, Herath H, Sleutel S, et al. (2008)** The quality of exogenous organic matter: short-term effects on soil physical properties and soil organic matter fractions. *Soil Use and Management* 24:139–147.
- Lettens S, Muys B, Ceulemans R, et al. (2003)** Energy budget and greenhouse gas balance evaluation of sustainable coppice systems for electricity production. *Biomass and Bioenergy* 24:179–197.
- Liang C, Jesus E da C, Duncan DS, et al. (2012)** Soil microbial communities under model biofuel cropping systems in southern Wisconsin, USA: Impact of crop species and soil properties. *Appl Soil Ecol* 54:24–31.
- Liang Z, Drijber R, Lee D, et al. (2008)** A DGGE-cloning method to characterize arbuscular mycorrhizal community structure in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 40:956–966.
- Liebig M, Doran J, Gardner J (1996)** Evaluation of a Field Test Kit for Measuring selected Soil Quality Indicators. *Agron J* 88:683–686.
- Liebig M, Varvel G, Doran J (2001)** A Simple Performance-Based Index for Assessing Multiple Agroecosystem Functions. *Agron J* 93:318, 313.
- Lockwell J, Guidi W, Labrecque M (2012)** Soil carbon sequestration potential of willows in short-rotation coppice established on abandoned farm lands. *Plant Soil* 360:299–318.
- Lodge D (1989)** The influence of soil moisture and flooding on formation of VA-endo- and ectomycorrhizae in *Populus* and *Salix*. *Plant Soil* 117:243–253.
- Londo M, Roose M, Dekker J, de Graaf H (2004)** Willow short-rotation coppice in multiple land-use systems: evaluation of four combination options in the Dutch context. *Biomass and Bioenergy* 27:205–221.
- Loveland P, Webb J (2003)** Is there a critical level of organic matter in the agricultural soils of temperate regions: a review. *Soil Till Res* 70:1–18.
- Ludwig J, Wilcox B, Breshears D, et al. (2005)** Vegetation patches and runoff-erosion as interacting ecohydrological processes in semiarid landscapes. *Ecology* 86:288–297.
- Lueders T, Wagner B, Claus P, Friedrich M (1998)** Stable isotope probing of rRNA and DNA reveals a dynamic methylotroph community and trophic interactions with fungi and protozoa in oxic rice field soil. *Environmental Microbiology* 64:4581–4587.

M

- Mace G, Norris K, Fitter A (2012)** Biodiversity and ecosystem services: a multilayered relationship. *Trends in Ecology & Evolution* 27:19–26.

- MacIntosh E, Bell S (2001)** Short Rotation Coppice in the Landscape. UK Forestry Commission Report, [http://www.forestry.gov.uk/PDF/fcgn2.pdf/\\$FILE/fcgn2.pdf](http://www.forestry.gov.uk/PDF/fcgn2.pdf/$FILE/fcgn2.pdf)
- MacKenzie A, Fan M, Cadrin F (1998)** Nitrous Oxide Emission in Three Years as Affected by Tillage, Corn-Soybean-Alfalfa Rotations, and Nitrogen Fertilization. *J Environ Qual* 27:698–703.
- Madani S, Ahmadian M, KhaliliAraghi M, Rahbar F (2012)** Estimating Total Economic Value of Coral Reefs of Kish Island (Persian Gulf). *Int J Environ Res* 6:51–60.
- Makeschin F (1992)** Influence of fast growing poplars and willows on the soil macrofauna on formerly arable land. 97–103.
- Makeschin F (1994)** Effects of energy forestry on soils. *Biomass Bioenerg* 6:63–79.
- Mann L, Tolbert V (2000)** Soil Sustainability in Renewable Biomass Plantings. *Ambio J Hum Environ* 29:492–498.
- Mao R, Zeng D (2010)** Changes in Soil Particulate Organic Matter, Microbial Biomass, and Activity Following Afforestation of Marginal Agricultural Lands in a Semi-Arid Area of Northeast China. *Environ Manage* 46:110–116.
- Marmioli M, Pietrini F, Maestri E, et al. (2011)** Growth, physiological and molecular traits in Salicaceae trees investigated for phytoremediation of heavy metals and organics. *Tree Physiology* 31:1319–1334.
- Marron N, Beimgraben T, Bes de Berc L, et al. (2011)** Project ERA-Net Bioenergy CREFF –Cost reduction and efficiency improvement of Short Rotation Coppice.”159.
- Marx M, Wood M, Jarvis S (2001)** A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils. *Soil Biol Biochem* 33:1633–1640.
- Matthews R (2001)** Modelling of energy and carbon budgets of wood fuel coppice systems. *Biomass and Bioenergy* 21:1–19.
- McClagherty C (1983)** Soluble polyphenols and carbohydrates in throughfall and leaf litter decomposition. *Acta oecologica Oecologia generalis* 4:375–385.
- McCormack S, Ostle N, Bardgett R, et al. (2013)** Biochar in bioenergy cropping systems: impacts on soil faunal communities and linked ecosystem processes. *GCB Bioenergy* 5:81–95.
- McLauchlan K, Hobbie S (2004)** Comparison of Labile Soil Organic Matter Fractionation Techniques. *Soil Sci Soc Am J* 68:1616–1625.
- Meiresonne L, De Schrijver A, De Vos B (2007)** Nutrient cycling in a poplar plantation (*Populus trichocarpa* x *Populus deltoïdes* –Beaupré”) on former agricultural land in northern Belgium. *Can J For Res* 37:141–155.

- Mele P, Crowley D (2008)** Application of self-organizing maps for assessing soil biological quality. *Agr Ecosyst Environ* 126:139–152.
- Milà i Canals L, Bauer C, Depestele J, et al. (2007)** Key Elements in a Framework for Land Use Impact Assessment Within LCA (11 pp). *Int J Life Cycle Assess* 12:5–15.
- Millennium Ecosystem Assessment (2005)** Ecosystems and human Well-being : Synthesis.
- Minor M, Volk T, Norton R (2004)** Effects of site preparation techniques on communities of soil mites (Acari: Oribatida, Acari: Gamasida) under short-rotation forestry plantings in New York, USA. *Appl Soil Ecol* 25:181–192.
- Mirck J, Isebrands J, Verwijst T, Ledin S (2005)** Development of short-rotation willow coppice systems for environmental purposes in Sweden. *Biomass and Bioenergy* 28:219–228.
- Mola-Yudego B, Aronsson P (2008)** Yield models for commercial willow biomass plantations in Sweden. *Biomass and Bioenergy* 32:829–837.
- Molina R, Massicotte H, Trappe J. (1992)** Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: Community-Ecological consequences and practical implications, in: Allen M.F., (éd.). 357–423.
- Moni C, Rumpel C, Virto I, et al. (2010)** Relative importance of sorption versus aggregation for organic matter storage in subsoil horizons of two contrasting soils. *European Journal of Soil Science* 61:958–969.
- Moore J, Deruiter P, Hunt H (1993)** Influence of Productivity on the Stability of Real and Model Ecosystems. *Science* 261:906–908.
- Mortensen J, Hauge Nielsen K, JØrgensen U (1998)** Nitrate leaching during establishment of willow (*Salix viminalis*) on two soil types and at two fertilization levels. *Biomass and Bioenergy* 15:457–466.
- Morvan X, Saby N, Arrouays D, et al. (2008)** Soil monitoring in Europe: A review of existing systems and requirements for harmonisation. *Sci Total Environ* 391:1–12.
- Mueller L, Schindler U, Shepherd T, et al. (2012)** A framework for assessing agricultural soil quality on a global scale. *Archives of Agronomy and Soil Science* 58:S76–S82.
- Muyzer G, Brinkhoff T, Nübel U, et al. (1998)** Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) in microbial ecology. *Kluwer Academic Publishers, Dordrecht*, pp 1–27

N

- Nadelhoffer K, Aber J, Melillo J (1985)** Fine Roots, Net Primary Production, and Soil Nitrogen Availability: A New Hypothesis. *Ecology* 66:1377–1390.
- Nadelhoffer K, Aber J, Melillo J (1985)** Fine Roots, Net Primary Production, and Soil Nitrogen Availability: A New Hypothesis. *Ecology* 66:1377–1390.
- Naeem S, Li S (1997)** Biodiversity enhances ecosystem reliability. *Nature* 390:507–509.
- Nair P, Kumar B, Nair V (2009)** Agroforestry as a strategy for carbon sequestration. *J Plant Nutr Soil Sc* 172:10–23.
- Nejad P, Ramstedt M, Granhall U (2004)** Pathogenic ice-nucleation active bacteria in willows for short rotation forestry. *Forest Pathology* 34:369–381.
- Niemeijer D, de Groot R (2008)** A conceptual framework for selecting environmental indicator sets. *Ecol Indic* 8:14–25.
- Noël H (2001)** Caractérisation et calibration des flux organiques sédimentaires dérivant du bassin versant et de la production aquatique (Annecy, le Petit Lac) - Rôles respectifs de l'Homme et du Climat sur l'évolution des flux organiques au cours des 6000 dernières années. Orléans
- Norini M (2007)** Ecodynamique des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) et des communautés microbiennes dans les sols à pollution mixte (HAP, métaux) avant et après traitement par biopile et par désorption thermique: Influence de la rhizosphère et de la mycorhization. Nancy 1
- Norris M, Blair J, Johnson L, McKane R (2001)** Assessing changes in biomass, productivity, and C and N stores following *Juniperus virginiana* forest expansion into tallgrass prairie. *Can J For Res* 31:1940–1946.
- Nortcliff S (2002)** Standardisation of soil quality attributes. *Soil Health Indic Sustain Manag* 88:161–168.

O

- Oades J (1993)** The role of biology in the formation, stabilization and degradation of soil structure. *Geoderma* 56:377–400.
- OCDE (2004)** Biomass and Agriculture Sustainability, Markets and Policies.
- Olsson P, Johnson N (2005)** Tracking carbon from the atmosphere to the rhizosphere. *Ecol Lett* 8:1264–1270.

P

- Paul E, Morris S, Conant R, Plante A (2006)** Does the acid hydrolysis incubation method measure meaningful soil organic carbon pools? *Soil Sci Soc Am J* 70:1023–1035.
- Paul K, Polglase P, Nyakuengama J, Khanna P (2002)** Change in soil carbon following afforestation. *Forest Ecol Manag* 168:241–257.
- Peigne J, Cannavaciolo M, Gautronneau Y, et al. (2009)** Earthworm populations under different tillage systems in organic farming. *Soil Till Res* 104:207–214.
- Pellegrino E, Di Bene C, Tozzini C, Bonari E (2011)** Impact on soil quality of a 10-year-old short-rotation coppice poplar stand compared with intensive agricultural and uncultivated systems in a Mediterranean area. *Agric Ecosyst Environ* 140:245–254.
- Pérès G, Piron D, Bellido A, Cluzeau D (2008)** Earthworms used as indicators of agricultural managements. *Fresen Environ Bull* 17:1181–1189.
- Pérès G, Vandenbulcke F, Guernion M, et al. (2011)** Earthworm indicators as tools for soil monitoring, characterization and risk assessment. An example from the national Bioindicator programme (France). *Pedobiologia* 54:77–S87.
- Persson G, Lindroth A (1994)** Simulating evaporation from short-rotation forest: variations within and between seasons. *J Hydrol* 156:21–45.
- Perttu K (1998)** Environmental justification for short-rotation forestry in Sweden. *Biomass and Bioenergy* 15:1–6.
- Pfiffner L, Luka H (2007)** Earthworm populations in two low-input cereal farming systems. *Appl Soil Ecol* 37:184–191.
- Plante A, Conant R, Paul E, et al. (2006)** Acid hydrolysis of easily dispersed and microaggregate-derived silt- and clay-sized fractions to isolate resistant soil organic matter. *Eur J Soil Sci* 57:456–467.
- Plante A, Fernández J, Leifeld J (2009)** Application of thermal analysis techniques in soil science. *Geoderma* 153:1–10.
- Plassart C, Dell B (2010)** Phosphorus nutrition of mycorrhizal trees. *Tree Physiol* 30:1129–1139.
- Plassart P, Akpa Vincelas M, Gangneux C, et al. (2008)** Molecular and functional responses of soil microbial communities under grassland restoration. *Agr Ecosyst Environ* 127:286–293.
- Plue J, Dupouey J, Verheyen K, Hermy M (2009)** Forest seed banks along an intensity gradient of ancient agriculture. *Seed Sci Res* 19:103–114.

Post W, Kwon K (2000) Soil carbon sequestration and land-use change: processes and potential. *Glob Change Biol* 6:317–327.

Pregitzer K, Zak D, Maziasz J, et al. (2000) Interactive Effects of Atmospheric CO₂ and Soil-N Availability on Fine Roots of *Populus tremuloides*. *Ecol Appl* 10:18–33.

Pulleman M, Creamer R, Hamer U, et al. (2012) Soil biodiversity, biological indicators and soil ecosystem services—an overview of European approaches. *Terr Syst* 4:529–538.

Püttsepp U, Lohmus K, Koppel A (2007) Decomposition of fine roots and alpha-cellulose in a short rotation willow (*Salix* spp.) plantation on abandoned agricultural land. *Silva Fenn* 41:247–258.

Püttsepp U, Rosling A, Taylor A (2004) Ectomycorrhizal fungal communities associated with *Salix viminalis* L. and *S. dasyclados* Wimm. clones in a short-rotation forestry plantation. *Forest Ecol Manag* 196:413–424.

Q

Quaye A, Volk T, Hafner S, et al. (2011) Impacts of paper sludge and manure on soil and biomass production of willow. *Biomass and Bioenergy* 35:2796–2806.

Quoreshi A, Khasa D (2008) Effectiveness of mycorrhizal inoculation in the nursery on root colonization, growth, and nutrient uptake of aspen and balsam poplar. *Biomass and Bioenergy* 32:381–391.

R

Ranger J (2003) Impact de la récolte et de la régénération des peuplements sur la fertilité des sols forestiers. 88.

Ranger J, Augusto L, Berthelot A, et al. (2011) Sylviculture et protection des sols. LXIII:245–264.

Ranger J, Colin-Belgrand M, Nys C (1995) Le cycle biogéochimique des éléments majeurs dans les écosystèmes forestiers. Importance dans le fonctionnement des sols. *Etude Gest Sols* 2:119–134.

Ranger J, Turpault M (1999) Input–output nutrient budgets as a diagnostic tool for sustainable forest management. *For Ecol Manag* 122:139–154.

Ranney J, Wright L, Mitchell C (1991) Carbon storage and recycling in short-rotation energy crops. *Proc Semin Organ Int Energy Agency Bioenergy Agreem Natl Energy Adm Swed Bioenergy Greenh Eff* 1:39–59.

- Ratcliff AW, Busse MD, Shestak CJ (2006)** Changes in microbial community structure following herbicide (glyphosate) additions to forest soils. *Appl Soil Ecol* 34:114–124.
- Reap J, Roman F, Duncan S, Bras B (2008)** A survey of unresolved problems in life cycle assessment. *Int J Life Cycle Assess* 13:374–388.
- Rebello de Mira R, Kroeze C (2006)** Greenhouse gas emissions from willow-based electricity: a scenario analysis for Portugal and The Netherlands. *Energy Policy* 34:1367–1377.
- Redon P (2009)** Rôle de champignons mycorhiziens à arbuscules dans le transfert du cadmium (Cd) du sol à la luzerne (*Medicago truncatula*). Thèse de Doctorat de l'Université Henri-Poincaré (Nancy 1)
- Reeves D (1997)** The role of soil organic matter in maintaining soil quality in continuous cropping systems. *Soil and Tillage Research* 43:131–167.
- Rezaei SA, Gilkes RJ, Andrews SS (2006)** A minimum data set for assessing soil quality in rangelands. *Geoderma* 136:229–234.
- Rich T, Sage R, Moore N, et al. (2001)** ARBRE monitoring-ecology of short rotation coppice plantations.
- Robinson B, Mills T, Petit D, et al. (2000)** Natural and induced cadmium-accumulation in poplar and willow: Implications for phytoremediation. *Plant Soil* 227:301–306.
- Robinson D, Hockley N, Dominati E, et al. (2012)** Natural Capital, Ecosystem Services, and Soil Change: Why Soil Science Must Embrace an Ecosystems Approach. *Vadose Zone J* 11:0.
- Robinson D, Lebron I, Vereecken H (2009)** On the Definition of the Natural Capital of Soils: A Framework for Description, Evaluation, and Monitoring. *Soil Sci Soc Am J* 73:1904–1911.
- Robinson K, Karp A, Taylor G (2004)** Defining leaf traits linked to yield in short-rotation coppice *Salix*. *Biomass Bioenerg* 26:417–431.
- Rochette P (2008)** No-till only increases N₂O emissions in poorly-aerated soils. *Soil and Tillage Research* 101:97–100.
- Rooney D, Killham K, Bending G, et al. (2009)** Mycorrhizas and biomass crops: opportunities for future sustainable development. *Trends in Plant Science* 14:542–549.
- Rossi J, Franc A, Rousseau G (2009)** Indicating soil quality and the GISQ. *Soil Biol Biochem* 41:444–445.
- Rovira P, Jorba M, Romanyà J (2010)** Active and passive organic matter fractions in Mediterranean forest soils. *Biol Fertil Soils* 46:355–369.
- Rovira P, Romanyà J, Duguay B (2012)** Long-term effects of wildfires on the biochemical quality of soil organic matter: A study on Mediterranean shrublands. *Geoderma* 179–180:9–19.

- Rowe RL, Hanley ME, Goulson D, et al. (2011)** Potential benefits of commercial willow Short Rotation Coppice (SRC) for farm-scale plant and invertebrate communities in the agri-environment. *Biomass Bioenerg* 35:325–336.
- Ruiz N, Mathieu J, Célini L, et al. (2011)** IBQS: A synthetic index of soil quality based on soil macro-invertebrate communities. *Soil Biol Biochem* 43:2032–2045.
- Russo S, Legge R, Weber K, et al. (2012)** Bacterial community structure of contrasting soils underlying Bornean rain forests: Inferences from microarray and next-generation sequencing methods. *Soil Biol Biochem* 55:48–59.
- Rutgers M, Schouten A, Bloem J, et al. (2009)** Biological measurements in a nationwide soil monitoring network. *Eur J Soil Sci* 60:820–832.
- Rutgers M, van Wijnen H, Schouten A, et al. (2012)** A method to assess ecosystem services developed from soil attributes with stakeholders and data of four arable farms. *Ecosyst Funct Ecosyst Serv Biodivers Ecol Risk Assess* 415:39–48.
- Rytter R (2001)** Biomass production and allocation, including fine-root turnover, and annual N uptake in lysimeter-grown basket willows. *Forest Ecol Manag* 140:177–192.
- Rytter R (2012)** The potential of willow and poplar plantations as carbon sinks in Sweden. *Biomass Bioenergy* 36:86–95.
- Rytter R, Hansson A (1996)** Seasonal amount, growth and depth distribution of fine roots in an irrigated and fertilized *Salix viminalis* L. plantation. *Biomass Bioenerg* 11:129–137.
- Rytter R, Rytter L (1998)** Growth, decay, and turnover rates of fine roots of basket willows. *Can J Forest Res* 28:893–902.
- Rytter R-M, Hansson A-C (1996)** Seasonal amount, growth and depth distribution of fine roots in an irrigated and fertilized *Salix viminalis* L. plantation. *Biomass Bioenergy* 11:129–137.

S

- Saenger A (2013)** Caractérisation et stabilité de la matière organique du sol en contexte montagnard calcaire: proposition d'indicateurs pour le suivi de la qualité des sols à l'échelle du paysage. Thèse de Doctorat de l'Université de Grenoble.
- Saenger A, Cécillon L, Sebag D, Brun J (2013)** Soil organic carbon quantity, chemistry and thermal stability in a mountainous landscape: A Rock-Eval pyrolysis survey. *Organic Geochemistry* 54:101–114.
- Sage (1999)** Weed competition in willow coppice crops: the cause and extent of yield losses. *Weed Res* 39:399–411.

- Sage R (1998)** Short rotation coppice for energy: towards ecological guidelines. *Biomass and Bioenergy* 15:39–47.
- Sage R, Cunningham M, Boatman N (2006)** Birds in willow short-rotation coppice compared to other arable crops in central England and a review of bird census data from energy crops in the UK. *Ibis* 148:184–197.
- Sage R, Rich T, Moore N, et al. (2001)** ARBRE monitoring: ecology of short rotation coppice plantations. Harwell Laboratory, Energy Technology Support Unit, 2001
- Saha S, Prakash V, Kundu S, et al. (2008)** Soil enzymatic activity as affected by long term application of farm yard manure and mineral fertilizer under a rainfed soybean–wheat system in N-W Himalaya. *Eur J Soil Biol* 44:309–315.
- Sala O, Van Vuuren D, Pereira M, et al. (2005)** Chapter 10 Biodiversity across Scenarios. In: Carpenter S, Pingali P, Bennett E, Zurek M (eds) *Ecosyst. Hum. Well- Scenar.*, Island Press, Washington DC. p 375–408
- Saljnikov E, Cakmak D, Rahimgalieva S (2013)** Chapter 10 Soil Organic Matter Stability as Affected by Land Management in Steppe Ecosystems. *Soil Processes and Current Trends in Quality Assessment*. p 270–310
- Salles J (2011)** Valuing biodiversity and ecosystem services: Why put economic values on Nature? *Comptes Rendus Biologies* 334:469–482.
- Samils B, McCracken A, Dawson W, Gullberg U (2003)** Host-specific Genetic Composition of *Melampsora larici-epitea* Populations on Two *Salix viminalis* Varieties in a Mixture Trial. *European Journal of Plant Pathology* 109:183–190.
- Sartori F, Lal R, Ebinger M, Parrish D (2006)** Potential Soil Carbon Sequestration and CO₂ Offset by Dedicated Energy Crops in the USA. *Critical Reviews in Plant Sciences* 25:441–472.
- Scaracia-Mugnozza G, Ceulemans R, Heilman P, et al. (1997)** Production physiology and morphology of *Populus* species and their hybrids grown under short rotation. II. Biomass components and harvest index of hybrid and parental species clones. *Can J For Res* 27:285–294.
- Schaumann G (2006)** Soil organic matter beyond molecular structure Part I: Macromolecular and supramolecular characteristics. *Z Pflanzenernähr Bodenk* 169:145–156.
- Scherr S, McNeely J (2008)** Biodiversity conservation and agricultural sustainability: towards a new paradigm of “ecoagriculture” landscapes. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 363:477–494.
- Scheu S, Parkinson D (1994)** Changes in bacterial and fungal biomass C, bacterial and fungal biovolume and ergosterol content after drying, remoistening and incubation of different layers of cool temperate forest soils. *Soil Biol Biochem* 26:1515–1525.
- Schlöter M, Dilly O, Munch J (2003)** Indicators for evaluating soil quality. *Biot Indic Biodivers Sustain Agric* 98:255–262.

- Schmidt M, Torn M, Abiven S, et al. (2011)** Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* 478:49–56.
- Schnurer J, Rosswall T (1982)** Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Appl Environ Microbiol* 43:1256–61.
- Schoenholtz S, Miegroet H, Burger J (2000)** A review of chemical and physical properties as indicators of forest soil quality: challenges and opportunities. *Forest Ecol Manag* 138:335–356.
- Schofield J, Hagerman A, Harold A (1998)** Loss of Tannins and Other Phenolics from Willow Leaf Litter. *J Chem Ecol* 24:1409–1421.
- Schrader S, Zhang H (1997)** Earthworm casting: Stabilization or destabilization of soil structure? *Soil Biol Biochem* 29:469–475.
- Schulten H, Leinweber P (1996)** Characterization of humic and soil particles by analytical pyrolysis and computer modeling. *J Anal Appl Pyrolysis* 38:1–53.
- Schultze A, Lavelle P, Hurel C (2009)** Evaluation de la bibliographie relative aux analyses de cycle de vie (ACV) appliquées aux productions lignocellulosiques. 149.
- Schulz U, Brauner O, Gruay H (2009)** Animal diversity on short-rotation coppices - a review. *Landbauforsch Volk* 59:181, 171.
- Sebag D, Disnar J, Guillet B, et al. (2006)** Monitoring organic matter dynamics in soil profiles by “Rock-Eval pyrolysis”: bulk characterization and quantification of degradation. *European Journal of Soil Science* 57:344–355.
- Sepp K, Ivask M, Kaasik A, et al. (2005)** Soil biota indicators for monitoring the Estonian agri-environmental programme. *Agri-Environ Schemes Landsc Exp Agri-Environ Schemes Landsc Exp* 108:264–273.
- Shoshany M, Goldshleger N, Chudnovsky A (2013)** Monitoring of agricultural soil degradation by remote-sensing methods: a review. *Int J Remote Sens* 34:6152–6181.
- Shukla M, Lal R, Ebinger M (2006)** Determining soil quality indicators by factor analysis. *Soil Tillage Res* 87:194–204.
- Simon L, Lalonde M, Bruns TD (1992)** Specific amplification of 18S fungal ribosomal genes from vesicular-arbuscular endomycorrhizal fungi colonizing roots. *Applied and Environmental Microbiology* 58:291–295.
- Simpson RT, Frey S, Six J, Thiet R (2004)** Preferential Accumulation of Microbial Carbon in Aggregate Structures of No-Tillage Soils. *Soil Sci Soc Am J* 68:1249–1255.
- Sims R, Hastings A, Schlamadinger B, et al. (2006)** Energy crops: current status and future prospects. *Ecol Lett* 12:2054–2076.

- Singer M., Ewing S (2000)** Soil quality. In: Sumner, ME (ed.) Handbook of Soil Science. CRC Press, Boca Raton, Florida, 271–298
- Singleton V, Orthofer R, Lamuela-Raventos R (1999)** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299:152–178.
- Sinha B, Bhadauria T, Ramakrishnan P, et al. (2003)** Impact of landscape modification on earthworm diversity and abundance in the Hariyali sacred landscape, Garhwal Himalaya. *Pedobiologia* 47:357–370.
- Sinsabaugh R, Reynolds H, Long T (2000)** Rapid assay for amidohydrolase (urease) activity in environmental samples. *Soil Biol Biochem* 32:2095–2097.
- Sinsabaugh RL, Lauber CL, Weintraub MN, et al. (2008)** Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecology Letters* 11:1252–1264.
- Sirén G, Sennerby-Forsse L, Ledin S (1987)** Energy plantations - short rotation forestry in Sweden. Hall OD Edited by Overrend, RP 119–143.
- Six J, Bossuyt H, Degryze S, Deneff K (2004)** A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil and Tillage Research* 79:7–31.
- Six J, Conant R, Paul E, Paustian K (2002)** Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation of soils. *Plant Soil* 241:155–176.
- Six J, Elliott E, Paustian K (2000a)** Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. *Soil Biol Biochem* 32:2099–2103.
- Six J, Elliott E, Paustian K (2000b)** Soil Structure and Soil Organic Matter. *Soil Sci Soc Am J* 64:1042–1049.
- Šlapokas T, Granhall U (1991)** Decomposition of willow-leaf litter in a short-rotation forest in relation to fungal colonization and palatability for earthworms. *Biol Fertil Soils* 10:241–248.
- Smart L, Volk T, Lin J, et al. (2005)** Genetic improvement of shrub willow (*Salix* spp.) crops for bioenergy and environmental applications in the United States. *Unasylva* 221
- Somogyi M (1952)** Notes on sugar determination. *J Biol Chem* 19–23.
- Soto G (2009)** Statut organique des sols en milieu aride : étude de la région de Coquimbo (Chili). Thèse de Doctorat de l'Université d'Orléans.
- Souch C, Martin P, Stephens W, Spoor G (2004)** Effects of soil compaction and mechanical damage at harvest on growth and biomass production of short rotation coppice willow. *Plant and Soil* 263:173–182.

- Sparling G, Vojvodić-Vuković M, Schipper L (1998)** Hot-water-soluble C as a simple measure of labile soil organic matter: The relationship with microbial biomass C. *Soil Biol Biochem* 30:1469–1472.
- Stallman H (2011)** Ecosystem services in agriculture: Determining suitability for provision by collective management. *Ecological Economics* 71:131–139.
- Stauffer M (2009)** Impact des Taillis à Très Courte Rotation sur la qualité du sol. Mémoire de Master de l'Université Henri-Poincaré (Nancy 1)
- Stauffer M, Leyval C, Brun J, et al. (2014)** Effect of willow short rotation coppice on soil properties after three years of growth as compared to forest, grassland and arable land uses. *Plant Soil*
- Stenberg B (1999)** Monitoring Soil Quality of Arable Land: Microbiological Indicators. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science* 49:1–24.
- Stork N, Eggleton P (1992)** Invertebrates as determinants and indicators of soil quality. 7:38–47.
- Strickland M, Rousk J (2010)** Considering fungal:bacterial dominance in soils – Methods, controls, and ecosystem implications. *Soil Biol Biochem* 42:1385–1395.
- Strosser E (2010)** Methods for determination of labile soil organic matter: An overview. *J Agrobiol* 27:49–60.
- Styles D, Jones M (2007)** Energy crops in Ireland: Quantifying the potential life-cycle greenhouse gas reductions of energy-crop electricity. *Biomass and Bioenergy* 31:759–772.
- Suárez E, Pelletier D, Fahey T, et al. (2004)** Effects of Exotic Earthworms on Soil Phosphorus Cycling in Two Broadleaf Temperate Forests. *Ecosystems* 7:28–44.
- Suthar S (2009)** Earthworm communities a bioindicator of arable land management practices: A case study in semiarid region of India. *Ecol Indic* 9:588–594.
- Sutton R, Sposito G (2005)** Molecular Structure in Soil Humic Substances: The New View. *Environ Sci Technol* 39:9009–9015.
- SWCS Special Publication (2007)** Framework for sustainable soil management. Literature review and synthesis.

T

- Tanaka S, Funakawa S, Kaewkhongkha T, Yonebayashi K (1998)** Labile pools of organic matter and microbial biomass in the surface soils under shifting cultivation in northern Thailand. *Soil Science and Plant Nutrition* 44:527–537.

- Teece M, Zengeya T, Volk T, Smart L (2008)** Cuticular wax composition of *Salix* varieties in relation to biomass productivity. *Phytochemistry* 69:396–402.
- Ter Braak C, Smilauer P (2002)** Canoco Reference Manuel and user's Guide Software for Ordination (version 4.0). Microcomputer Power, Ithaca NY
- Thion C, Cébron A, Beguiristain T, Leyval C (2012)** Long-term in situ dynamics of the fungal communities in a multi-contaminated soil are mainly driven by plants. *FEMS Microbiol Ecol* 82:169–181.
- Tiessen H, Cuevas E, Chacon P (1994)** The role of soil organic matter in sustaining soil fertility. *Nature* 371:783–785.
- Tilman D, Fargione J, Wolff B, et al. (2001)** Forecasting Agriculturally Driven Global Environmental Change. *Science* 292:281–284.
- Toenshoff C, Stuelpnagel R, Joergensen R, Wachendorf C (2013)** Carbon in plant biomass and soils of poplar and willow plantations—implications for SOC distribution in different soil fractions after re-conversion to arable land. *Plant Soil* 367:407–417.
- Toljander Y, Weih M, Taylor A (2006)** Mycorrhizal colonisation of willows in plantations and adjacent natural stands. *Proceedings of the 5th International Conference on Mycorrhiza*
- Trouvelot A, Kough J, Gianinazzi-Pearson V (1985)** Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. Aspects physiologiques et génétiques des mycorhizes - Actes du premier symposium Européen sur les mycorhizes, Gianinazzi. Paris, pp 217–221
- Tubby I, Armstrong A (2002)** The establishment and management of short rotation coppice - a practitioner's guide. Forestry Commission, Edinburgh 12p.

U

- Ulzen-Appiah F, Biggs R, Abrahamson L, Bickelhaupt D (2001)** Soil carbon pool in a short-rotation willow (*Salix dasyclados*) plantation four years after establishment. *Proc Third Bienn Short-Rotat Woody Crops Oper Work Group Conf Syracuse NY Oct 10-13:193.*
- UNCCD (2012)** Zero Net Land Degradation A Sustainable Development Goal for Rio+20.
- United Nations (2013)** World Population Prospects The 2012 Revision Key Findings and Advance Tables. 54.

V

- Van Bruggen A, Semenov A (2000)** In search of biological indicators for soil health and disease suppression. *Appl Soil Ecol* 15:13–24.
- Van den Brink P, Den Besten P, Bij de Vaate A, Ter Braak C (2009)** Principal response curves technique for the analysis of multivariate biomonitoring time series. *Environ Monit Assess* 152:271–281.
- Van den Brink P, Ter Braak C (1999)** Principal Response Curves: Analysis of time-dependent multivariate responses of biological community to stress. *Environ Toxicol Chem* 18:138–148.
- Van der Heijden E (2001)** Differential benefits of arbuscular mycorrhizal and ectomycorrhizal infection of *Salix repens*. *Mycorrhiza* 10:185–193.
- Van der Heijden M, Bardgett R, Van Straalen N (2008)** The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecol Lett* 11:296–310.
- Van Eekeren N, Bommelé L, Bloem J, et al. (2008)** Soil biological quality after 36 years of ley-arable cropping, permanent grassland and permanent arable cropping. *Appl Soil Ecol* 40:432–446.
- Vande Walle I, Van Camp N, Van de Castele L, et al. (2007a)** Short-rotation forestry of birch, maple, poplar and willow in Flanders (Belgium) II. Energy production and CO₂ emission reduction potential. *Biomass and Bioenergy* 31:276–283.
- Vande Walle I, Van Camp N, Van de Castele L, et al. (2007b)** Short-rotation forestry of birch, maple, poplar and willow in Flanders (Belgium) I—Biomass production after 4 years of tree growth. *Biomass and Bioenergy* 31:267–275.
- Vandenbroucke M, Largeau C (2007)** Kerogen origin, evolution and structure. *Organic Geochemistry* 38:719–833.
- Velasquez E, Lavelle P, Andrade M (2007)** GISQ, a multifunctional indicator of soil quality. *Soil Biol Biochem* 39:3066–3080.
- Vestergård M, Henry F, Rangel-Castro J, et al. (2008)** Rhizosphere bacterial community composition responds to arbuscular mycorrhiza, but not to reductions in microbial activity induced by foliar cutting. *FEMS Microbiology Ecology* 64:78–89.
- Virto I, Moni C, Swanston C, Chenu C (2010)** Turnover of intra- and extra-aggregate organic matter at the silt-size scale. *Geoderma* 156:1–10.
- Vogt K, Grier C, Vogt D (1986)** Production, turnover, and nutrient dynamics of above- and belowground detritus of world forests. 303–377.

- Vogt K, Vogt D, Bloomfield J (1998)** Analysis of some direct and indirect methods for estimating root biomass and production of forests at an ecosystem level. *Plant Soil* 200:71–89.
- Volk T, Abrahamson L, Nowak C, et al. (2006)** The development of short-rotation willow in the northeastern United States for bioenergy and bioproducts, agroforestry and phytoremediation. *Biomass and Bioenergy* 30:715–727.
- Volk T, Verwijst T, Tharakan P, et al. (2004)** Growing Fuel: A Sustainability Assessment of Willow Biomass Crops. *Front Ecol Environ* 2:411–418.
- Von Lützow M, Kögel-Knabner I, Ekschmitt K, et al. (2006)** Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions – a review. *European Journal of Soil Science* 57:426–445.
- Vrščaj B, Poggio L, Marsan F (2008)** A method for soil environmental quality evaluation for management and planning in urban areas. *Soil Monit Eval Interest Land Use Plan* 88:81–94.

W

- Wang Y, Hsieh Y (2002)** Uncertainties and novel prospects in the study of the soil carbon dynamics. *Chemosphere* 49:791–804.
- Ward K, Ward R (2001)** Diversity and abundance of carabid beetles in short-rotation plantings of sweetgum, maize and switchgrass in Alabama. *Agrofor Syst* 53:261–267.
- Wardle D, Bardgett R, Klironomos J, et al. (2004)** Ecological Linkages Between Aboveground and Belowground Biota. *Science* 304:1629–1633.
- Wardle DA, Giller KE (1996)** The quest for a contemporary ecological dimension to soil biology. *Soil Biol Biochem* 28:1549–1554.
- Wardle DA, Yeates GW, Watson RN, Nicholson KS (1993)** Response of soil microbial biomass and plant litter decomposition to weed management strategies in maize and asparagus cropping systems. *Soil Biol Biochem* 25:857–868.
- Watling R, Kramer C, Montgomery R, et al. (1982)** Decomposer basidiomycetes: their biology and ecology. Editors Frankland JC, Hedger JN, Swift MJ, 355.
- Watts C, Clark L, Chamen W, Whitmore A (2005)** Adverse effects of simulated harvesting of short-rotation willow and poplar coppice on vertical pressures and rut depths. *Soil Till Res* 84:192–199.

- Weih M (2001)** Evidence for increased sensitivity to nutrient and water stress in a fast-growing hybrid willow compared with a natural willow clone. *Tree Physiol* 21:1141–1148.
- Weih M, Nordh N (2005)** Determinants of biomass production in hybrid willows and prediction of field performance from pot studies. *Tree Physiology* 25:1197–1206.
- Whalen JK, Costa C (2003)** Linking spatio-temporal dynamics of earthworm populations to nutrient cycling in temperate agricultural and forest ecosystems: The 7th international symposium on earthworm ecology Cardiff Wales 2002. *Pedobiologia* 47:801–806.
- White T, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990)** Analysis of phylogenetic relationships by amplification and direct sequencing of ribosomal RNA genes. In: Innis M, Gelfand D, Sninsky J, White T (eds) *PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications*. pp 315–322
- Wickings K, Grandy A, Reed S, Cleveland C (2012)** The origin of litter chemical complexity during decomposition. *Ecol Lett* 15:1180–1188.
- Wienhold B, Andrews S, Karlen D (2004)** Soil Quality: A Review of the Science and Experiences in the USA. *Environ Geochem Hlth* 26:95, 89.
- Wieshammer G, Unterbrunner R, García T, et al. (2007)** Phytoextraction of Cd and Zn from agricultural soils by *Salix* spp. and intercropping of *Salix caprea* and *Arabidopsis halleri*. *Plant Soil* 298:255–264.
- Wilkinson J, Evans E, Bilsborrow P, et al. (2007)** Yield of willow cultivars at different planting densities in a commercial short rotation coppice in the north of England. *Biomass Bioenerg* 31:469–474.

Y

- Yao R, Yang J, Gao P, et al. (2013a)** Determining minimum data set for soil quality assessment of typical salt-affected farmland in the coastal reclamation area. *Soil Tillage Res* 128:137–148.
- Yao R, Yang J, Zhang T, et al. (2013b)** Short-term effect of cultivation and crop rotation systems on soil quality indicators in a coastal newly reclaimed farming area. *J Soils Sediments* 13:1335–1350.

Z

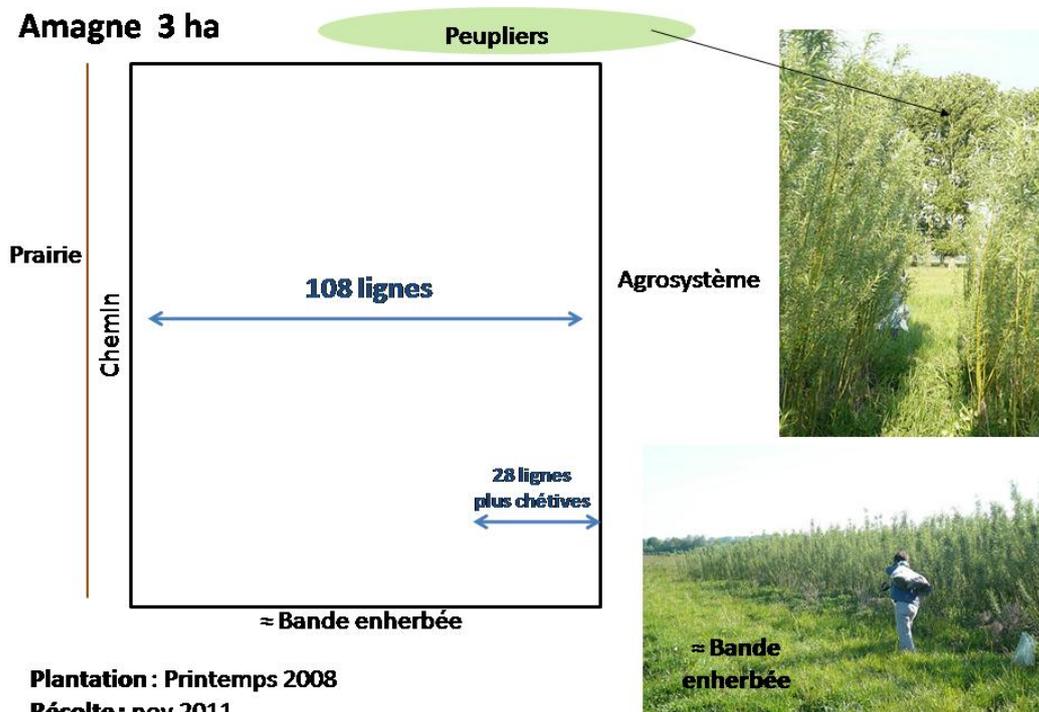
- Zaborski E (2003)** Allyl isothiocyanate: an alternative chemical expellant for sampling earthworms. *Appl Soil Ecol* 22:87–95.
- Zagal E, Muñoz C, Quiroz M, Córdova C (2009)** Sensitivity of early indicators for evaluating quality changes in soil organic matter. *Geoderma* 151:191–198.

- Zahm F, Viaux P, Vilain L, et al. (2008)** Assessing farm sustainability with the IDEA method – from the concept of agriculture sustainability to case studies on farms. *Sustainable Development* 16:271–281.
- Zan CS, Fyles JW, Girouard P, Samson RA (2001)** Carbon sequestration in perennial bioenergy, annual corn and uncultivated systems in southern Quebec. *Agr Ecosyst Environ* 86:135–144.
- Zavala-Cruz J, Trujillo-Capistran F, Ortiz-Ceballos G, Ortiz-Ceballos A (2013)** Tropical Endogeic Earthworm Population in a Pollution Gradient with Weathered Crude Oil. *Research Journal of Environmental Sciences* 7:15–26.
- Zhu Y, Michael Miller R (2003)** Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil–plant systems. *Trends in Plant Science* 8:407–409.
- Zimmer D, Baum C, Leinweber P, et al. (2009)** Associated bacteria increase the phytoextraction of cadmium and zinc from a metal-contaminated soil by mycorrhizal willows. *International Journal of Phytoremediation* 11:200–213.
- Zimmer D, Baum C, Meissner R, Leinweber P (2012)** Soil-ecological evaluation of willows in a floodplain. *Z Pflanzenernähr Bodenk* 175:245–252.
- Zimmermann M, Leifeld J, Abiven S, et al. (2007)** Sodium hypochlorite separates an older soil organic matter fraction than acid hydrolysis. *Geoderma* 139:171–179.
- Zsolnay A (2003)** Dissolved organic matter: artefacts, definitions, and functions. *Ecol Asp Dissolved Org Matter Soils* 113:187–209.

ANNEXE 1

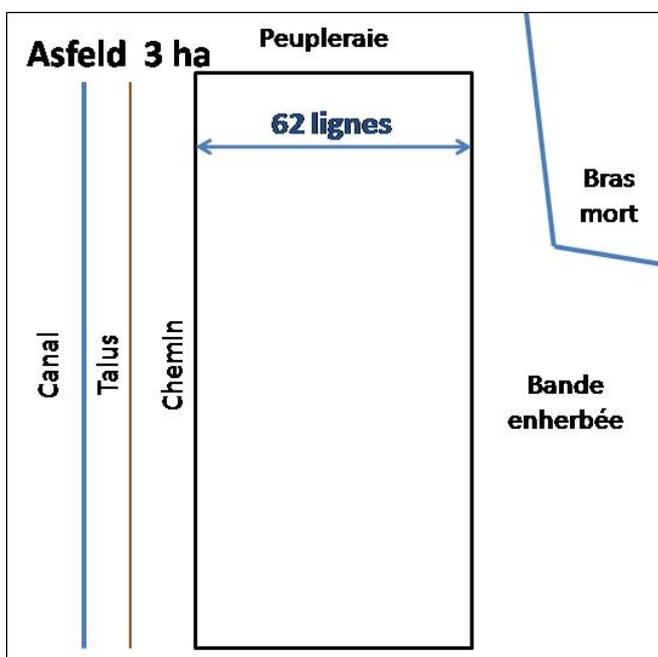
Caractéristiques spatiales des parcelles de TTCR étudiées.

Amagne 3 ha



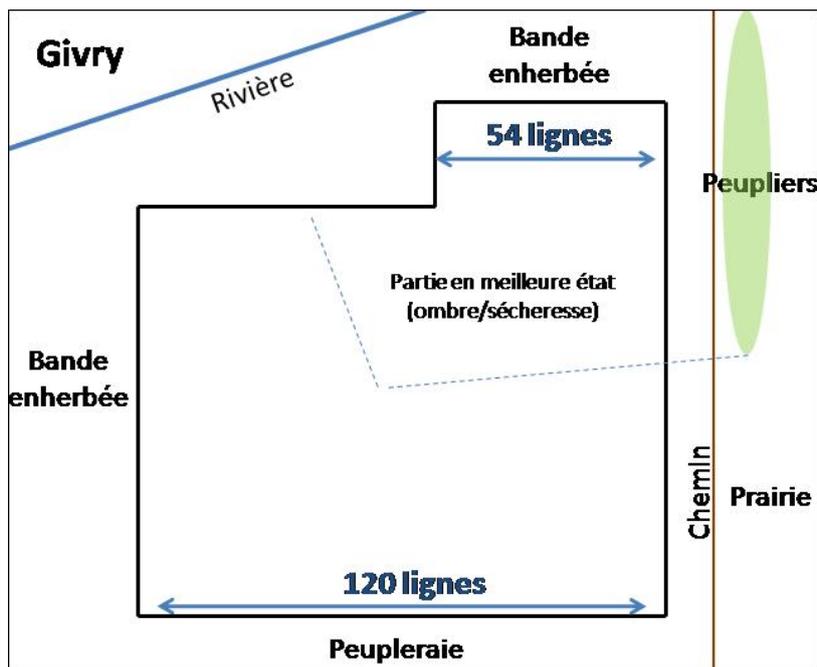
Plantation : Printemps 2008
Récolte : nov 2011
Antécédent culturel : Jachère
Etat : très mauvais.

≈ Bande enherbée → désherbée avec parcelle et très tassée



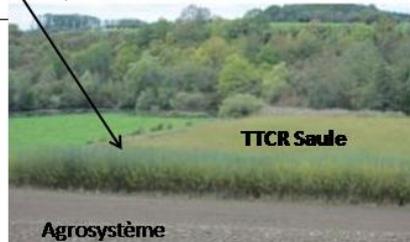
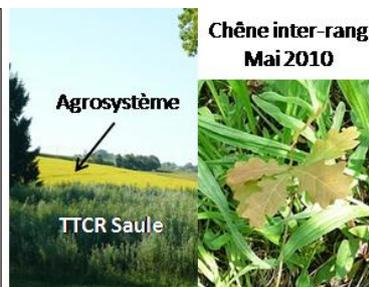
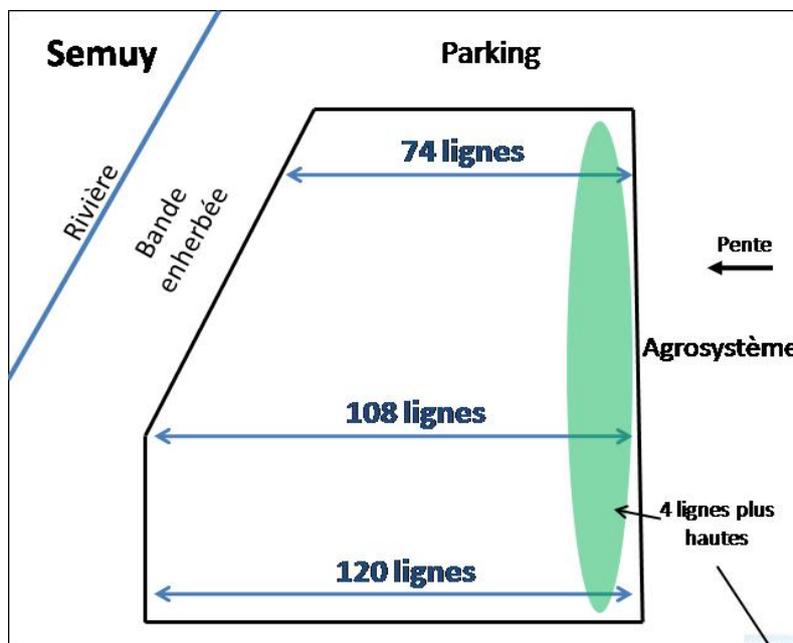
Plantation : Printemps 2008
Récolte : nov 2011
Antécédent culturel : Jachère
Etat : bon.





Plantation : Printemps 2006
Récolte: nov 2008 et 2011
Antécédent culturel : Maïs
Etat : Surface importante ayant souffert de la sécheresse.

Chêne et cornouiller en inter-rang à partir du printemps 2010



Plantation : Printemps 2006
Récolte: nov 2008 et nov 2011
Antécédent culturel : Maïs

Chêne et cornouiller en inter-rang à partir du printemps 2010

ANNEXE 2

Synthèse des différents indicateurs mesurés aux différents temps

Les chiffres de 0 à 4 correspondent aux temps de prélèvements, T0 (mai 2010 pour les paramètres de fertilité et les paramètres de communauté biologique, août 2010 pour les activités enzymatiques et l'humidité du sol et mai 2009 pour le Ptot), T1 (automne 2010), T2 (printemps 2011), T3 (automne 2011), T4 (printemps 2012). HS, humidité du sol, RB, NB respiration ou nitrification basale, TM C,N, taux de minéralisation de l'azote ou du carbone, Pase, phosphatase, Gase, glucosidase, FDA, hydrolyse de la FDA, Lase, Laccase, LAP, Leucine Amino Peptidase, Uase, Urease, Bvdt, Dvdt, H'vdt Biomasse, Densité et diversité des vers de terre, epi, ane, end, % de vers épigés, anéciques et endogés, G16S, G18S, nombre de copies de gènes d'ARNr 16S ou 18S/g sol sec, H'18S-16S diversité des populations fongiques et bactériennes, CorgH, Carbone Organique Extractible à l'Eau Chaude, CORA, Carbone Organique Résistant à l'Acide, SRed, Sucres réducteurs, PST, Polysaccharides Totaux, CP, Composés Phénoliques Totaux, PyrRE, indicateurs issus de la pyrolyse rock eval des sols.

	Semuy (TTCR + BE)					Givry (TTCR + BE)					Asfeld (TTCR + BE)					Amagne (TTCR + BE)					Forêt					Agrosystème				
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
pH	v	v				v	v				v	v				v	v				v					v				
Corg, MO	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
C/N	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
Ctot	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
Ntot	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺		v					v										v									v				
Ptotal	v					v					v					v														
Pdispo	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
Ca	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
Mg	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
Na	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
K	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
CEC	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
HS	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
RB, TM C		v	v	v	v		v	v	v	v		v	v	v	v		v	v	v	v		v	v	v	v		v	v	v	
NB, TM N		v					v					v					v					v					v			
Pase	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
Gase	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
Case	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
FDA	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
Lase	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
LAP			v	v	v			v	v	v			v	v	v			v	v	v			v	v	v			v	v	
Uase			v	v	v			v	v	v			v	v	v			v	v	v			v	v	v			v	v	
Bvdt		v		v				v		v			v		v			v		v			v		v			v	v	
Dvdt		v		v				v		v			v		v			v		v			v		v			v	v	
H'vdt		v		v				v		v			v		v			v		v			v		v			v	v	
epi		v		v				v		v			v		v			v		v			v		v			v	v	
ane		v		v				v		v			v		v			v		v			v		v			v	v	
end		v		v				v		v			v		v			v		v			v		v			v	v	
G16S	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
G18S	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
F/B	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
H'18S	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
H'16S	v	v				v	v				v	v				v	v				v					v			v	
CorgH		v					v															v					v			
CORA		v					v															v					v			
SRed		v					v															v					v			
PST		v					v															v					v			
CP		v					v															v					v			
Pyr RE	v	v				v	v				v	v				v	v				v					v			v	

ANNEXE 3

Préparation des tampons utilisés

- **Tampon acétate 50 mM, pH = 5 (Phénols-oxydase)**

MM acétate de sodium = 82 g/mol

Solution A : introduire 2 g d'acétate de sodium dans 300 mL d'eau distillée

Solution B : introduire 2,5 mL d'acide acétique dans 875 mL d'eau distillée

Mélanger 250 mL de solution A + 750 mL de solution B

Vérifier le pH du tampon et conserver à 4°C

- **Tampon phosphate 0,1M, pH = 7.5 (β glucosidase, cellobiohydrolase, phosphatase alcaline, leucine amino-peptidase)**

Préparation pour 100 mL : 80 mL de solution d'hydrogénophosphate disodique (Na_2HPO_4) à $0,95 \text{ g.L}^{-1}$ si il est anhydre (ou $2,39 \text{ g.L}^{-1}$ si il est hydraté à 12 H_2O) + 20 mL de dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) à $0,91 \text{ g.L}^{-1}$.

- **Tampon MES 0,1M, pH = 6 (β glucosidase, cellobiohydrolase, phosphatase alcaline)**
21.7 g/L

- **Tampon Trizma[®] 0,05M, pH = 8 (leucine amino-peptidase)** 6,06 g/L

- **Tampon potassium-phosphate 0,1M, pH = 7.6 (Hydrolyse de la FDA)**

Dissoudre 17.4g de K_2HPO_4 et 2.6g de KH_2PO_4 dans 1600 mL d'eau distillée, ajuster le pH et compléter à 2L

L'activité uréase est mesurée dans l'eau. Les tampons ont été autoclavés avant chaque utilisation.

ANNEXE 4

Protocoles détaillés des activités enzymatiques mesurées dans les sols étudiés

Préparation des solutions de sol :

2.5 g de sol frais sont pesés dans un falcon (50 mL), dans lequel sont ajoutés 40 mL de tampon approprié (Annexe 1). L'ensemble est agité une première fois pendant 10 min à 250 rpm, la suspension est soumise à 2 min de sonication. Enfin une nouvelle agitation de 5 min à 250 rpm également est réalisée.

Activité des hydrolases

Le détail des préparations de solutions mères de substrat, leurs concentrations et les diluants sont illustrés dans le tableau 1. Les solutions de substrats sont protégées de la lumière avec du papier d'aluminium. Pour les réactions des solutions filles de substrat sont préparées à 1mM à partir des solutions mères à 10mM.

Tableau 1 : Préparation des solutions mères de substrats et des fluorochromes pour les dosages des activités hydrolases.

Activité	Substrat	MM	[substrat]		solution mère		
			mM	g/L	mg/mL	mg/1.5mL	diluant
Glucosidase	4-MUF- β -d-glucopyranoside	338.31	10	3.38	3.4	5.1	Ethylen glycol monomethyl ether
Cellulase	4-MUF- β -d-cellobioside	500.45	10	5	5	7.5	
Phosphatase	4-Methylumbelliferyl-phosphate	256.15	10	2.56	2.6	3.9	eau ultra pure stérile
Leucine-amino-peptidase	1 leucine-7-amido-4-methylcoumarin	324.8	10	3.25	3.2	4.8	
Fluorochromes	4-Methylumbelliferone MUF	176.17	10	1.76	1.8	2.7	méthanol
	7-amino-4-methylcoumarin AMC	175.18	10	1.75	1.8	2.7	

La réaction s'effectue dans des microplaques noires (Greiner bio-one, Ref 655076). Pour les sols étudiés les concentrations saturantes en substrat pour les activités glucosidase, cellulase, phosphatase et leucine-amino-peptidase étaient de 120 μ M. Un puits de microplaque contient 25 μ L d'extrait de sol, 95 μ L de tampon phosphate, 100 μ L de tampon MES pour les activités glucosidase, cellulase et phosphatase, 100 μ L de tampon Trizma pour l'activité Leucine-amino-peptidase. Les solutions de sol sont pipetées après agitation sans attendre la décantation des particules (beaucoup de protéines peuvent être liées aux particules en

suspension.). La fluorescence a été mesurée une fois par heure pendant 6 heures, Les microplaques ont été agitées pendant 1 min à 900 rpm (agitateur eppendorf MixMate) avant chaque mesure. Dans la chambre d'incubation à 28°C les microplaques ont été couvertes afin d'éviter l'évaporation.

Les étalonnages sont réalisés avec les fluorochromes seuls, le 4-Methylumbelliférol (MUF) et le 7-amino-4-méthylcoumarin (AMC) (sigma, M1381 et A9891). Ils sont dilués dans du méthanol pour obtenir une solution à 10 mM. Un exemple de plan de microplaque pour réaliser les gammes étalons est présenté ci-dessous. 3 solutions de MUF ou AMC sont utilisées (10, 100 ou 200 µM), 25 µL d'extrait de sol pour prendre en compte le « quenching » du sol sur la fluorescence. Le volume dans le puits est complété par du tampon d'extraction et 100 µL de tampon MES ou trizma comme pendant la réaction (Tableau 2).

Tableau 2 : Exemple de plan de microplaque pour réaliser les courbes d'étalonnages des activités hydrolases.

MUF ou AMC			Asfeld			Tasfeld			Givry			Tgivy			volume en µL		
quantité (pmol/puits)	concentration	volume µL	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Tp extr	MES ou Trizma	extrait sol
0			A												125	100	25
500	10µM	50	B												75	100	25
1000		100	C												25	100	25
1500		100µM	15	D												110	100
3000	30		E												95	100	25
6000	60		F												65	100	25
10000	100		G												25	100	25
20000	200µM	100	H												25	100	25

La lecture de la fluorescence s'effectue à 330 nm d'excitation et 450 nm d'émission pour les activités cellulase, phosphatase alcaline et β-glucosidase utilisant le fluorochrome MUF. Pour l'activité leucine amino-peptidase utilisant l'AMC, l'excitation est à 342 nm et l'émission est à 440 nm.

Activité Uréase, hydrolase du cycle de l'azote.

Le substrat utilisé pour évaluer l'activité uréase est une solution d'urée à 0.4 M. L'ammonium produit de la réaction est mesuré par une réaction colorimétrique à l'aide de réactifs Hach (salicylate et cyanurate d'ammonium: N°23952-66 et N°23954-66). L'ion ammonium réagit avec du salicylate, du nitroferrocyanure pour former en milieu alcalin un complexe salicylate ammoniacal dont l'absorbance à 670 nm est proportionnelle à la concentration d'azote ammoniacal.

La réaction est réalisée dans l'eau, un contrôle négatif (dosage de l'ammonium présent dans l'extrait de sol) et un contrôle substrat sont réalisés (tableau 3). Après les essais pour ajuster le temps d'incubation, les microplaques étaient placées 3h à 25°C.

Tableau 3: contenu des puits de microplaque pour mesurer l'activité uréase

V (μL)	Réaction (ABS éch)	Control négatif	Control substrat
Urée (0.4 M)	40	0	40
Eau UTP	100	140	200
Extrait sol	100	100	0

Après l'incubation, 40 μL de salicylate (1 sachet dans 2 mL d'eau) était ajouté dans chaque puits. La microplaque était ensuite agitée. 3 min plus tard, 40 μL de cyanurate (1 sachet dans 2 mL d'eau) étaient ajoutés dans chaque puits. Après une nouvelle agitation et 30 min de repos la plaque était centrifugée 5 min à 2500 rpm. 200 μL du contenu de chaque puits étaient ensuite transférés dans une « plaque de lecture » à fond transparent (Greiner bio-one, Ref 655096). L'absorbance est lue à 670 nm. L'activité uréase est exprimée en nmol NH₄ produit par gramme de sol sec et par heure.

$$\text{Activité Uréase} = (\text{ABS net} \times V) / (E \times T \times M \times A)$$

ABS net = ABS échantillon – ABS control négatif – ABS control substrat

V = volume suspension de sol (100μL)

E = pente droite étalon (réalisée avec NH₄Cl)

T = temps d'incubation

M = masse de sol sec départ

A = volume de l'essai : 0,1 mL

Hydrolyse de la FDA

La fluorescéine diacétate (FDA) se dissout dans l'acétone, la solution mère de FDA (5 mg/L) est préparée dans 10mL d'acétone. La solution fille (400 μg/mL) est préparée avec 800μL de solution mère diluée dans 4600μL d'acétone et 4600μL de tampon potassium-phosphate.

La réaction a lieu dans des microplaques noires. Dans chaque puits est ajouté 195 μL de tampon potassium-phosphate, 25 μL d'extrait de sol et 30 μL de substrat (FDA à 400 μg/mL).

Comme pour les hydrolases, les solutions de sol sont pipetées après agitation sans attendre la décantation des particules. La fluorescence a été mesurée une fois par heure pendant 6 heures, Les microplaques ont été agitées pendant 1 min à 900 rpm (agitateur eppendorf MixMate) avant chaque mesure. Dans la chambre d'incubation à 28°C les microplaques ont été couvertes afin d'éviter l'évaporation.

L'étalonnage est réalisé avec deux solutions de fluorescéine (sigma, F2456), à 50 μg/mL (Tampon KP) 10 μg/mL (Tampon KP) préparé avec une solution à 500 μg/mL diluée dans l'acétone. La gamme varie de 0 à 1.5 μg/puits de fluorescéine.

La lecture de la fluorescence s'effectue à 490 nm d'excitation et 523 nm d'émission.

Activité Phénol-oxydase (Laccase)

Le substrat 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) est dilué dans de l'eau à 50 mM. La réaction se fait à 37°C dans 1.5 mL. 1 mL de tampon acétate préalablement chauffé est mélangé à 400µL d'extrait de sol et 100 µL de substrat. Les tubes sont placés à 37°C pendant 10 min dans un agitateur à 50 rpm.

Ils sont ensuite centrifugés à 10 000 rpm à 4°C pour stopper la réaction. 250 µL de chaque échantillon sont déposés dans une plaque de lecture (noire à fond transparent). L'absorbance est lue à 418 nm.

$$\text{act laccase} = \frac{\text{Abs} \times k \times 10^6}{\varepsilon \times l \times t \times \text{sol}}$$

Abs : absorbance de l'échantillon

k : coefficient de dilution ($0.15 = 3.75 \times 0.0004 \times 100$), 400 µL prélevés dans 40 mL d'extrait de sol et dilués dans 1.5 mL.

ε_{420} : coefficient d'extinction de l'ABTS à 420 nm, $36\,000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$

l : hauteur du puits, 0.9 cm

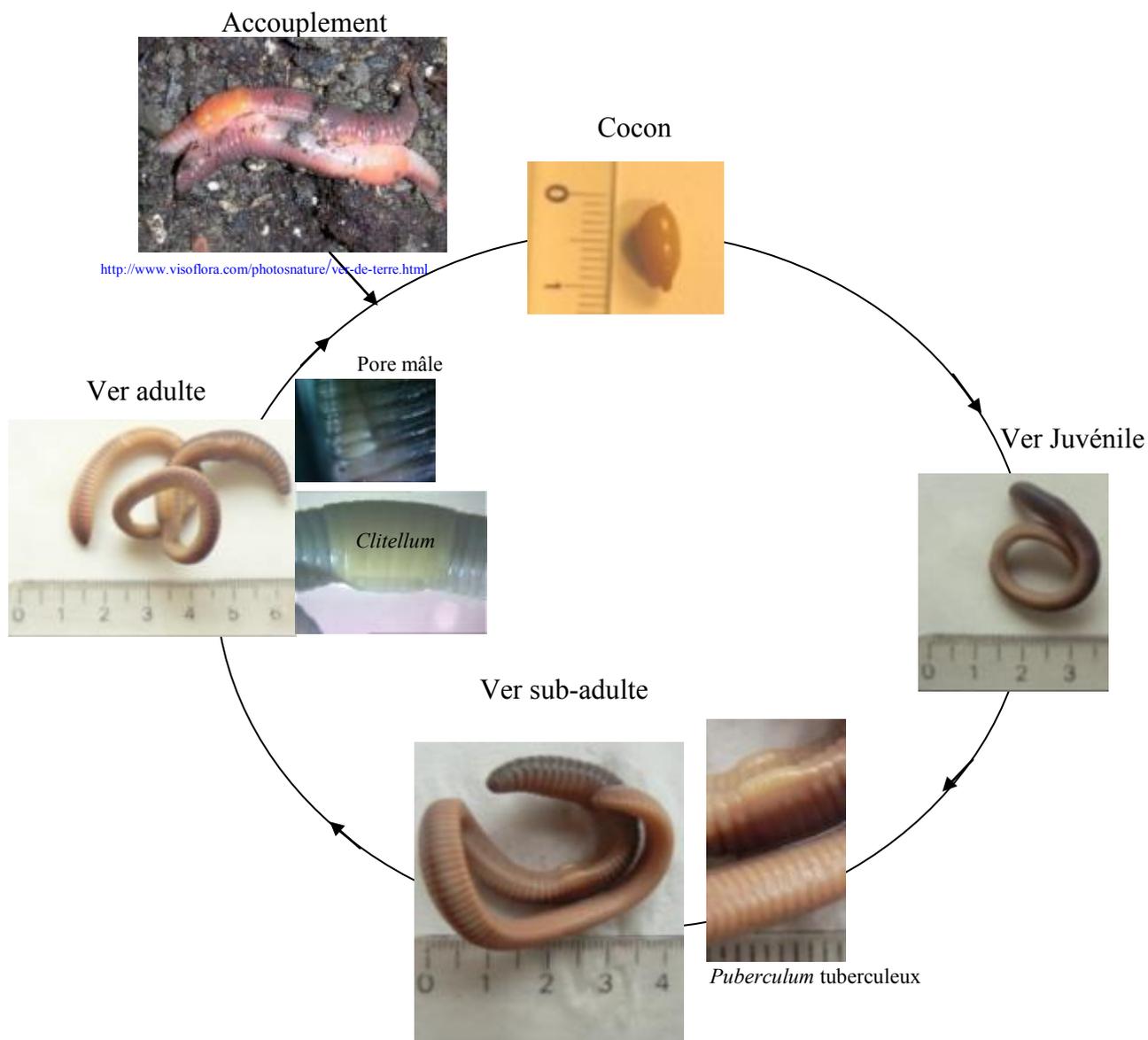
t : temps de réaction, 10 min

Sol: quantité de sol pesé en équivalent sol sec (g)

L'activité laccase est exprimée en mU ($\mu\text{mol d'ABTS}^+ \text{ formé} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}_{\text{sol sec}}^{-1}$)

ANNEXE 5

Cycle de vie et photos d'espèces de vers de terre rencontrées



Cycle de vie de *Lumbricus Terrestris* (d'après C. Pelosi 2008)

Lumbricus Castaneus (épigé)

Vers adulte



Prostomium



Vue latérale, pore mâle



Apporectodea (Anécique)

Ver adulte
Apporectodea nocturna



Vue ventrale,
pore mâle et chaetophores
Apporectodea nocturna



Prostomium épilobique
Apporectodea nocturna



Vue ventrale, soies géminées
Apporectodea Longa



Puberculum
Apporectodea. sp



Allolobophora Chlorotica (endogé)

Ver adulte



Puberculum



Eisenia andrei (épigé)

Ver adulte



Pore mâle



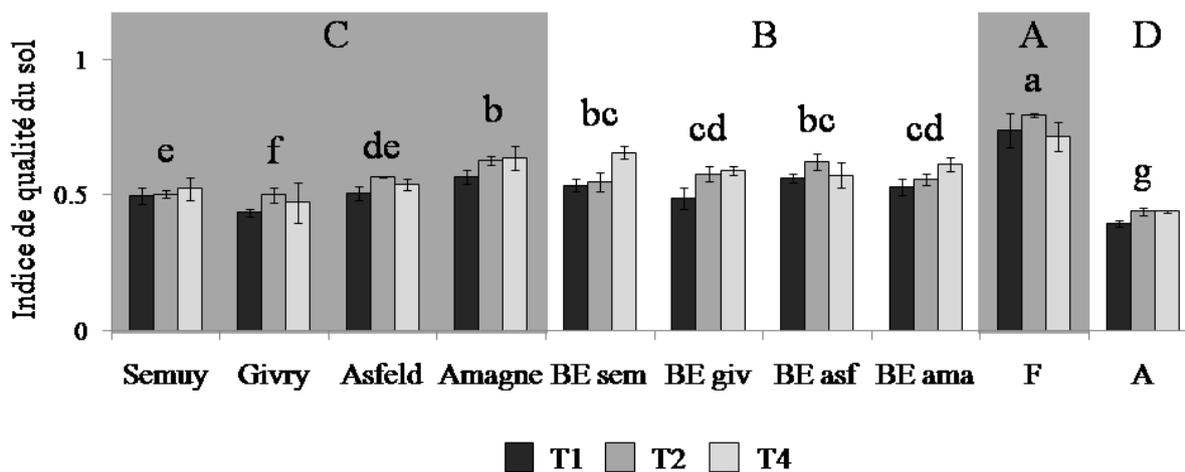
Tableau: Valeurs moyennes des principaux indicateurs de qualité des sols se rapportant à la fertilité (MO, Ctot, Ntot sont exprimés en g/kg et la CEC en cmol+/kg) aux deux premiers temps de prélèvements T0 (printemps 2010) et T1 (automne 2010) (n=3) et résultats des trois ANOVAS à deux facteurs (parcelles, usages et sites) sur les parcelles des quatre sites (p <0.05*, <0.01, <0.001***, <0.0001****) (TTCR-M : parcelles de TTCR de Semuy et Givry à précédent maïs, TTCR-J : parcelle de TTCR d'Amagne et Asfeld à précédent jachère).**

	Semuy		BE Sem		Givry		BE Giv		Asfeld		BE Asf		Amagne		BE ama		F	A
	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T1	T1
MO	49.2	47.5	38.8	55.6	30.6	32.2	43.7	41.0	45.8	48.4	62.9	57.0	54.5	60.2	57.6	56.6	119.0	41.7
	± 0.4	± 1.5	± 0.9	± 3.2	± 0.4	± 0.7	± 0.9	± 1.2	± 1.3	± 1.1	± 4.8	± 1.7	± 0.9	± 1.0	± 0.7	± 2.1	± 5.3	± 0.3
C/N	9.8	9.6	10.2	10.2	10.1	9.7	10.5	10.1	9.6	9.3	10.7	9.4	9.3	9.1	9.1	8.8	11.1	10.1
	± 0.02	± 0.1	± 0.3	± 0.3	± 0.2	± 0.2	± 0.3	± 0.2	± 0.03	± 0.1	± 0.5	± 0.1	± 0.1	± 0.1	± 0.2	± 0.2	± 0.1	± 0.1
Ctot	38.9	38.6	37.2	48.1	33.2	32.9	36.9	37.9	39.9	40.8	51.4	46.9	32.8	35.6	36.0	35.3	76.3	50.1
	± 0.3	± 1.3	± 0.8	± 1.9	± 0.2	± 0.2	± 0.5	± 0.7	± 0.8	± 0.3	± 1.5	± 1.2	± 0.4	± 0.7	± 0.7	± 1.0	± 3.2	± 1.3
Ntot	2.9	2.9	2.2	3.2	1.8	1.9	2.4	2.3	2.8	3.0	3.4	3.5	3.4	3.8	3.7	3.7	6.2	2.4
	± 0.02	± 0.1	± 0.04	± 0.1	± 0.01	± 0.01	± 0.03	± 0.1	± 0.1	± 0.03	± 0.1	± 0.1	± 0.1	± 0.04	± 0.1	± 0.1	± 0.2	± 0.03
CEC	38.3	34.7	30.1	35.3	28.0	29.4	32.5	29.1	35.4	37.5	34.9	38.4	56.0	56.6	58.1	55.7	55.3	22.3
	± 0.1	± 0.8	± 0.8	± 1.0	± 0.6	± 0.06	± 0.2	± 0.3	± 0.4	± 0.3	± 0.8	± 0.3	± 0.5	± 0.6	± 1.6	± 0.1	± 1.8	± 0.4
effet parcelles													effet du temps					
	Semuy	BE Sem	Givry	BE Giv	Asfeld	BE Asf	Amagne	BE ama	F	A	p	T0	T1	p				
MO	C	C	E	D	C	B	B	B	A	D	****	B	A	****				
C/N	DE	BC	CD	B	E	BC	F	F	A	BC	**	A	B	**				
Ctot	E	C	G	E	D	B	G	F	A	B	**	B	A	****				
Ntot	D	E	G	F	D	C	B	B	A	F	****	B	A	****				
CEC	C	D	F	E	C	C	AB	A	B	G	****	A	A	-				
effet du site						effet de l'usage												
	Semuy	Givry	Asfeld	Amagne	p	TTCR-M	TTCR-J	BE	F	A	p							
MO	B	C	A	A	*	C	B	B	A	BC	****							
C/N	A	A	A	B	****	B	B	B	A	B	*							
Ctot	B	C	A	C	**	D	D	C	A	B	*							
Ntot	C	D	B	A	**	D	B	BC	A	CD	*							
CEC	C	D	B	A	**	BC	A	B	A	C	*							

ANNEXE 7

Indices de qualité globale du sol calculés au T1, T2 et T4 sur l'ensemble des parcelles.

Dans cette annexe les indicateurs suivants ont été utilisés : respiration basale (RB), taux de minéralisation du carbone (TMC), l'activité phosphatase (Pase), l'activité glucosidase (Gase), l'activité cellulase (Case), l'hydrolyse de la FDA (FDA) et l'activité laccase (Lase) pour la fonction d'activité biologique ; l'abondance bactérienne (G16S), l'abondance fongique (G18S), le rapport abondance fongique/abondance bactérienne (F :B) et la diversité fongique (H'18S) concernant l'indice lié aux communautés biologiques; la teneur en matière organique (MO), C/N, le carbone total (Ctot), l'azote total (Ntot), le phosphore disponible (P), les cations échangeables (Ca, Mg, Na, K), la capacité d'échange cationique (CEC) et l'humidité du sol (HS). Il s'agit de la même liste d'indicateurs qu'au chapitre 6. Amagne a été inclus en enlevant le T3 de l'analyse.



Effet du temps	<i>P-value</i>	1	2	4
SQI	<0.0001	B	A	A

Figure 1 : Evolution au cours du temps des indices de qualité du sol sur l'ensemble des parcelles étudiées. Les lettres minuscules représentent les résultats de l'Anova à deux facteurs (parcelles, temps), et les lettres majuscules ceux de l'Anova à deux facteurs (usage du sol, temps) dont les p-values étaient <0.0001 pour la première et pour la deuxième. Le tableau représente l'effet du temps sur l'indice.

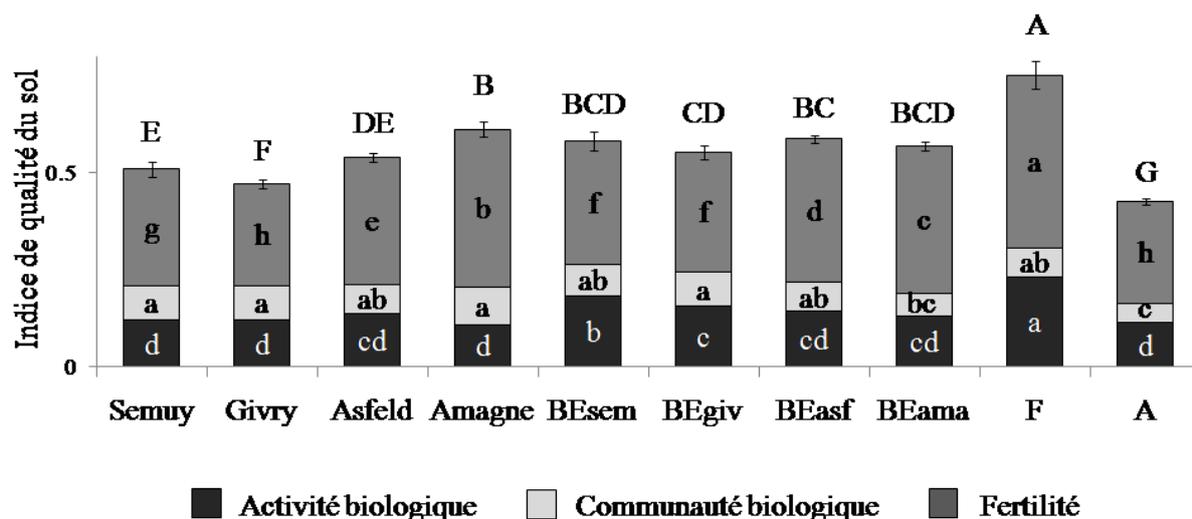


Figure 2 : Proportion de trois fonctions du sol, activité biologique, communauté biologique et fertilité dans le calcul de l'indice global de qualité du sol sur chaque parcelle. L'indice correspond à la moyenne des indices calculés au T1, T2 et T4. Les lettres en minuscules correspondent aux résultats d'anova sur chacune des trois fonctions et les lettres en majuscules aux résultats de l'anova sur l'indice global. Les p-values étaient les suivantes : <math><0.0001</math> pour l'activité biologique, la fertilité et l'indice total et <math><0.001</math> pour la proportion de l'indice représenté par les communautés biologiques.