



HAL
open science

Fonctionnement des sols contaminés

Pierre Lucisine

► **To cite this version:**

Pierre Lucisine. Fonctionnement des sols contaminés. Sciences de la Terre. Université de Lorraine, 2015. Français. NNT : 2015LORR0195 . tel-01754626

HAL Id: tel-01754626

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01754626>

Submitted on 30 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>

Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux (LIEC)
UMR 7360

THESE

Présenté à l'Université de Lorraine en vue de l'obtention du grade de :

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LORRAINE

Mention : Ecotoxicité, Biodiversité, Ecosystèmes

Par

Pierre LUCISINE

Fonctionnement des sols contaminés

Soutenue le **3 décembre 2015** devant la commission d'examen :

<u>Directeur de thèse</u>	Pr. Elisabeth M. GROSS	Professeur, Université de Lorraine
<u>Co-encadrants</u>	Dr. Florence MAUNOURY DANGER	Maître de conférences, Université de Lorraine
	Dr. Antoine LECERF	Maître de conférences, Université Toulouse III
<u>Rapporteurs</u>	DR. Sébastien BAROT	Directeur de recherche, IEES, Université Pierre et Maire CURIE
	Pr. Francis DOUAY	Professeur, LGCgE, Institut Supérieur d'Agriculture de Lille
<u>Examineur</u>	Dr. Mickael HEDDE	Chargé de recherche, INRA centre de Versailles Grignon
<u>Invité</u>	Dr. Hélène Roussel	Chef de projet, ADEME

Remerciements

Nous y voilà, le moment fatidique où l'on écrit les dernières lignes de ce qui clôture 3 années bien remplies de sa vie. C'est en commençant à écrire ce paragraphe que j'ai réalisé à quel point il était important de finir par cette partie. Ecrire une thèse, par définition, c'est décrire un cheminement scientifique, des résultats, de les synthétiser et prendre du recul sur tout le travail scientifique réalisé pendant 3 années de doctorat. Tout l'intérêt de finir ce travail d'écriture par les remerciements est de se rappeler que derrière cette tâche laborieuse le doctorat est aussi une formidable aventure humaine. Je réalise qu'il me sera difficile de réussir à remercier tous ceux, sans qui jamais je n'aurais pu parvenir là où j'en suis à ce jour.

Je pense tout d'abord à Florence Maunoury-Danger qui fut le premier lien à me rattacher à ce doctorat, le jour où j'ai reçu son mail me proposant de candidater pour une aventure dont, à l'époque, je n'imaginais pas l'ampleur qu'elle prendrait. Le lien à ensuite grossi pour me tirer toujours et encore plus haut. C'est pour m'avoir toujours poussé à aller plus loin, à développer une rigueur scientifique à me guider et cela malgré parfois un certain entêtement de ma part que je tiens à la remercier en première. Bien évidemment, tout mes remerciements vont également à Elisabeth Gross et Antoine Lecerf qui ont su me guider et m'ont énormément apporté, malgré de nombreuses responsabilités annexes à mon doctorat pour l'un et un éloignement physique parfois contraignant pour l'autre. A eux trois, ils m'ont apporté un regard nouveau sur ce qu'est la recherche aussi bien scientifiquement que socialement et pour cela je leur en serais à jamais reconnaissant. Je tenais également à les remercier, ainsi que Michael Danger, aussi bien pour l'étendue des champs scientifiques à laquelle ils m'ont ouvert mais également l'importance que leurs conseils ont pu avoir sur ma rédaction de thèse.

Je tiens également à remercier l'ADEME et en particulier Hélène Roussel, à la fois pour avoir financé mes travaux de recherche mais aussi pour m'avoir donné l'opportunité de communiquer sur mes résultats scientifiques dans de prestigieux congrès allant de la France à la Corée.

Je remercie les membres du mon jury : Sébastien Barot, Francis Douay et Mickael Hedde pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'évaluer mes travaux.

Etre en doctorat c'est également faire partie d'un laboratoire et rien ne serait possible au sein d'un tel vaisseau sans son capitaine. Je remercie donc Fabien Thomas pour m'avoir enrôlé dans l'équipage du LIEC ainsi que Pascale Bauda pour m'avoir pris à bord du skif que fut le LIEBE. Je remercie également tout l'équipage de ce glorieux trois mâts pour l'ambiance joviale qu'ils y font régner.

Parmi cet équipage, mes pensées vont tout d'abord à Adeline Janus, Adrien le Navenant et Meera Manghani. Plus que des petits mousses, vous avez été et serez de vrais compagnons de voyage qui ont montré de grandes compétences scientifiques et ce fut un grand plaisir de travailler avec vous. Au-delà du professionnalisme, j'ai pris et je prendrais énormément de plaisir à vous côtoyer. Adeline, tu fus la première vraie Lorraine que j'ai rencontrée et tu m'as fait aimer ta région et ses habitants. J'espère que l'avenir nous permettra de continuer à se siroter des petits Moka en soirée. Quant à toi, Adrien, le lorrain qui vous veut du bien, ce sera toujours un plaisir que d'aller te faire tirer la langue en VTT. Merci à toi aussi Meera de m'avoir fait voyager du Canada en passant par l'Inde. Cela me manquera de ne plus entendre le petit personnage de dessin animé qui vit dans ta tête.

Merci également à l'équipe « technique ». Si j'avais su que te faire faire un aller retour sur Lille, dans la journée, pour 30 minutes de terrain, me vaudrait de superbes journées dans les Vosges en ta compagnie, Philippe W, je m'y serais pris plus tôt. Merci également à toi Phillippe R, pour la grande efficacité de ton labo et également pour tes magnifiques sorties astronomie. Merci également à Etienne et à Jean-François P pour toute l'aide que vous m'avez apporté.

Voguer à sein du LIEC c'est aussi partir pour des destinations exotiques avec des personnes formidables. Je pense en particulier à Marie Spitoni sans qui je ne serais peut être jamais allé sur une petite île tout au Nord. Ce fut l'une des escales la plus agréable de mon doctorat et tu en es, pour une grande part, la raison. Ce fut également un plaisir de fréquenter votre taverne du pont des roches, Maël et Faustine, ainsi que de vous accompagner pour des petites sorties dans le St Q. Bref, oups ! Désolé Chacal, mais je compte bien venir faire des actes de piraterie dans votre futur vaisseau ardéchois.

Maintenant, vient le tour des galériens. Des compagnons de misère. Ceux qui ont, ou qui vont, affronter le scorbut à coup de rhum et dont les mains tremblantes, craquelées par le soleil et les embruns, travaillent à obtenir le mélange parfait de la poudre à canon dans la noirceur et l'humidité des cales. Ce fut un honneur que de ramer à vos côtés, que ce soit les vieux roublards de la pagaie (Papo, Evelyne, et Adrien), comme les forçats de l'aviron (Andreina, Émilie, Imad, Marine, Carole Jennifer et Kévin) ou encore les petits mousses qui récurent le pont (Anne, Vanessa et Alice). Je n'oublie pas non plus mes compagnons de chambrée (Romain, Floriane, Alban et par extension, Elise) qui même s'ils ont la gâchette facile auront été d'un grand soutien lors de la grande tempête que je viens de traverser. Maintenant arrive le jour pour moi de quitter le navire et de rejoindre la terre ferme. Ce sera l'occasion de

retrouver des compagnons de mon ancien bâtiment (Joan, Dimichou, Robin, Childos,...) et de lever bien haut ma choppe en leur honneur. J'espère tous vous revoir, une fois que pour vous aussi, le bateau sera revenu à quai.

Enfin, un voyage dans le grand large ne pourrait pas se faire sans ceux restés à terre. Je remercie donc toute ma famille pour tout l'amour et le soutien qu'ils m'ont apporté. Merci d'avoir su comprendre que l'appel du large nécessite, parfois, de ne pas rentrer souvent au port.

Merci à ma petite sirène, d'avoir été à mes côtés au pire de la tempête et d'avoir si bien utilisé de son chant apaisant.

Table des matières

Etat de l'art

1.	Equilibre dynamique et perturbation des écosystèmes terrestres.....	1
1.1.	Le sol.....	1
1.2.	La pollution des sols : un facteur de stress pour les écosystèmes du sol	1
1.2.1.	Fonctions écosystémiques du sol et services rendus.....	1
1.2.2.	Equilibre dynamique des écosystèmes.....	2
1.2.3.	Diversité des perturbations anthropiques	5
1.2.3.1.	Les éléments traces métalliques.....	6
1.2.3.2.	Polluants organiques	10
1.2.3.3.	Toxicité des polluants	12
a.	Mobilité des polluants	12
b.	La biodisponibilité et son évaluation.....	14
c.	Sensibilité des organismes aux polluants	15
2.	La décomposition de la litière : une fonction écosystémique d'importance	18
2.1.	Les processus de la décomposition	18
2.2.	Interaction entre les groupes fonctionnels.....	20
2.3.	Contrôle des processus de la décomposition.....	20
3.	Les végétaux : producteurs de la litière.....	22
3.1.	Paramètres de la qualité de la litière de feuille.....	22

3.1.1.	Composition élémentaire.....	22
3.1.2.	Les composés phénoliques	26
3.1.3.	La masse surfacique : un paramètre intégrateur de la structure de la feuille	28
3.2.	Devenir des métaux dans les végétaux.....	31
3.2.1.	Absorption et transport des métaux dans la plante.....	31
3.2.2.	Flux et séquestration : résistance des plantes aux ETM.....	34
3.2.3.	Effets des ETM sur les végétaux.....	38
4.	Effets de la pollution sur les acteurs de la décomposition	39
4.1.	Physiologie des détritivores	39
4.1.1.	Effets néfastes des polluants	39
4.1.2.	Systèmes de résistance	40
4.2.	Effets des polluants sur la structure des communautés des acteurs	41
4.3.	Conséquences pour la décomposition de la litière	42
5.	Objectifs de la thèse	44

Chapitre I

Effets directs et indirects de la pollution des sols sur la décomposition de la litière dans une friche industrielle

Article : Litter chemistry prevails over litter consumers in mediating effects of past steel industry activities on leaf litter decomposition.....54

Chapitre II

Généralisation de l'absence d'effet direct de la pollution pour huit friches industrielles de France métropolitaine

Manuscrit d'article : Excessive pollutant loading in forest soil of brownfields does not alter leaf litter decomposition.....98

Chapitre III

Gestion des ETM dans les litières de feuilles de trois espèces d'arbres

Manuscrit d'article : Stratégie de gestion des ETM dans les litières de feuilles par trois espèces d'arbres.....142

Chapitre VI

La pollution métallique des sols peut induire une amélioration de la qualité des feuilles et des litières

Manuscrit d'article : La pollution métallique des sols peut induire une amélioration de la qualité des feuilles et des litières, modulée par la présence de champignons endomycorhiziens182

Conclusion & perspectives

Contexte.....	226
Absence d'effet direct.....	229
Effet indirect positif.....	230
Implications des résultats pour la gestion des sites pollués.....	234
Références bibliographiques.....	240

Liste des figures

Etat de l'art

Figure 1.1 Répartition des organismes vivants selon les trois stratégies écologiques : compétitif (C), résistant aux aléas ou rudéraux (R) et résistant aux stress (S).....	5
Figure 1.2 Réponse physiologique des végétaux en fonction d'une augmentation de la teneur dans le sol en métaux essentiels (A) ou non-essentiels (B).....	17
Figure 1.3 Relation entre l'abondance des nutriments dans le sol et la qualité élémentaire des feuilles sénescents formant la litière.....	24
Figure 1.4 Modèle global décrivant l'effet direct et indirect de l'altitude, des coordonnées spatiales, du climat et des traits de la qualité de la litière (C:N et LMA) sur le taux de décomposition de la litière (LnR).....	25
Figure 1.5 Classification, principales caractéristiques et structure des principaux composés phénoliques.....	28
Figure 1.6 Variation du LMA au sein de la plante.....	29
Figure 1.7 Transport radial dans la racine.....	32
Figure 1.8 Potentiels principaux mécanismes de résistance des végétaux aux ETM.....	35
Figure 1.9 Schéma représentant les principales hypothèses de ce travail.....	48

Chapitre I

Figure 2.1 Conceptual model of how soil pollution may affect litter decomposition rate.....	60
Figure 2.2 Scheme of the experimental design used.....	68

Figure 2.3 Effects of the site of litter exposure and the site of litter origin on litter decomposition.	73
Figure 2.4 Effects of the site of litter exposure and the site of litter origin on fungal colonization of leaf litter	76
Figure 2.5 Mesofauna in litter-bags sampled at the end of the decomposition experiment (a) and macrofauna captured in pitfall traps (b) in a polluted site (P) and unpolluted sites (U1-3).	78

Chapitre II

Figure 3.1 Localization of the eight experimental sites in France	103
Figure 3.2 Distribution of experimental sites on the PCA factorial plan based on pollution (a) and environmental variables (c).	109
Figure 3.3 Site-specific differences in litter decomposition between polluted and control sub-sites, for coarse and fine mesh litter bags (CB, FB).....	111
Figure 3.4 Ratio of decomposition rates found in coarse and fine mesh litter bags.	112
Figure 3.5 Effect of pollution on litter elemental composition and microorganism community structure	115
Figure 3.6 Site-specific differences in litter nitrogen remaining mass between polluted and control sub-sites, for coarse and fine mesh litter bags (CB, FB).	133
Figure 3.7 Site-specific differences in litter carbon remaining mass between polluted and control sub-sites, for coarse and fine mesh litter bags (CB, FB).	134
Figure 3.8 Site-specific differences in litter C:N ratio dynamic between polluted and control sub-sites, for coarse and fine mesh litter bags (CB, FB).....	135

Chapitre III

Figure 4.1 Localisation du site pollué (P) et distribution des sites non-pollués (U1, U2 et U3) selon un axe Nord-Sud	149
Figure 4.2 Effet de l'espèce végétale et du site d'origine sur les teneurs en métaux des feuilles au cours du temps.....	156
Figure 4.3 Effet de l'espèce végétale et du site d'origine sur la composition élémentaire au cours du temps.	159
Figure 4.4 Effet de l'espèce végétale et du site d'origine sur la composition en fibre des feuilles au cours du temps.	161
Figure 4.5 Effet de l'espèce végétale et du site d'origine sur la teneur en composés phénoliques des feuilles au cours du temps..	163

Chapitre VI

Figure 5.1 Description du plan expérimental suivi lors de la réalisation de cette expérimentation.....	190
Figure 5.2 Schéma descriptif des différentes analyses effectuées sur les boutures de peuplier.	190
Figure 5.3 Effet des ETM du sol et de la mycorhization sur les teneurs en ETM des peupliers.	199
Figure 5.4 Effet des ETM du sol et de la mycorhization sur les teneurs en nutriments des peupliers..	204
Figure 5.5 Effet des ETM du sol et de la mycorhization sur le ratio C:N des peupliers. Les échelles entre les différents panneaux de la figure ne sont pas les mêmes..	205

Figure 5.6 Effet des ETM du sol et de la mycorhization sur les teneurs en composés phénoliques des feuilles matures.....	207
Figure 5.7 Effet des ETM du sol et de la mycorhization sur la dynamique de l'indice flavonols dans les feuilles.	208
Figure 5.8 Effet des ETM du sol et de la mycorhization sur les teneurs en fibres des feuilles sénescentes.	209

Conclusion & perspectives

Figure 6.1 Schéma représentant les principaux résultats de ce doctorat.....	227
---	-----

Liste des tableaux

Etat de l'art

Tableau 1.1 Table périodique classifiant les éléments chimiques.....	7
Tableau 1.2 Diversité de la pollution en éléments traces métalliques (ETM) et polluants organiques dans les sites suivis par le ministère de l'écologie, du développement durable et de l'énergie.....	8
Tableau 1.3 Principales sources anthropiques d'ETM.....	9
Tableau 1.4 Propriétés notables, source et structure des principaux polluants organiques	11
Tableau 1.5 Variabilité de la tolérance de 13 espèces végétales d'intérêt agronomique face à une pollution en Cd.	16
Tableau 1.6 Rôle présumé des 4 groupes de transporteurs chez les végétaux et les métaux concernés.....	33

Chapitre I

Table 2.1 Site location and soil characteristics	62
Table 2.2 Initial chemistry of <i>P. tremula</i> leaf litter originating from a polluted site and three unpolluted sites.....	71
Table 2.3 Summary of mixed-effects models assessing main and interactive effects of the site of litter exposure, the site of litter origin, and time on litter mass remaining in mesh bags and on ergosterol content in leaf litter.	74
Table 2.4 Summary of macrofauna community data at the polluted site and three unpolluted sites.....	79

Chapitre II

Table 3.1 Main properties of experimental sites, sorted from highly polluted (A) to less polluted (H) sites based on a pollution score described below..	103
Table 3.2 Mean initial properties of the litter used in the experiment	130
Table 3.3 Detailed properties of experimental polluted sub-sites (P) and un-polluted sub-sites (U)	131
Table 3.4 Detailed pollution of experimental polluted sub-sites (P) and un-polluted sub-sites (U)	132
Table 3.5 Summary of mixed-effects models assessing main and interactive effects of the site of litter exposure, the litter bag mesh size, and time on litter carbon and nitrogen mass remaining and on the C:N ratio in leaf litter.	136

Chapitre III

Tableau 4.1 Localisation des sites expérimentaux et principales caractéristiques des sols ...	150
---	-----

Chapitre VI

Tableau 5.1 Teneur et forme des différents éléments apportés en solution dans les sols	189
Tableau 5.2 Résumé des résultats de l'analyse des deux modèles linéaires indépendants utilisés pour chacun des paramètres morphologiques mesurés sur les peupliers	201

Conclusion & perspectives

Tableau 6.1 Synthèse des effets de la pollution du sol sur les traits de qualité de la litière des 5 espèces végétales étudiées durant la thèse.	232
---	-----

Etat de l'art

1. Equilibre dynamique et perturbation des écosystèmes terrestres

1.1. Le sol

Géologique, le sol désigne une succession de couches ou strates formées par la dégradation de la roche mère et l'accumulation de matière organique résultant des activités biologiques (Jabiol et al., 2011). L'Association Française pour l'Etude des sols (AFES), quant à elle donne une définition plus large du sol qui est la suivante : « Le sol est un volume qui s'étend depuis la surface de la Terre jusqu'à une profondeur marquée par l'apparition d'une roche dure ou meuble, peu altérée ou peu marquée par la pédogenèse. L'épaisseur du sol peut varier de quelques centimètres à quelques dizaines de mètres, ou plus. Il constitue, localement, une partie de la couverture pédologique qui s'étend à l'ensemble de la surface de la Terre. Il comporte le plus souvent plusieurs horizons correspondant à une organisation des constituants organiques et/ou minéraux (la terre). Il est le lieu d'une intense activité biologique (racines, faune et microorganismes). C'est à cette dernière définition que je ferai référence lorsque je parlerai de sol, dans cette thèse, afin de prendre en compte à la fois sa structure physicochimique et la présence de tous les règnes du vivant interagissant entre eux.

1.2. La pollution des sols : un facteur de stress pour les écosystèmes du sol

1.2.1. Fonctions écosystémiques du sol et services rendus

L'écosystème tel qu'il a été défini pour la première fois par Sir Arthur Tansley (1935) est l'ensemble des espèces vivantes, ou biocénose, dans un biotope donné. Le biotope étant l'environnement abiotique (*i.e.* température, humidité, granulométrie du sol,...) dans lequel se trouve la biocénose.

Au sein de l'écosystème, les organismes, de par leur fonctionnement (*i.e.* alimentation, production de déchets, reproduction) et leurs interactions entre eux (*i.e.* compétition,

parasitisme,...), créent des flux de matière et d'énergie entre les différents compartiments biologiques. Nous qualifierons ces flux de fonctions écosystémiques. Parmi les différentes fonctions, nous pouvons retenir la décomposition de la matière organique décrite ci-après. Chacune de ces fonctions résultent d'un ensemble de processus et peuvent conduire à un ou plusieurs services écosystémiques, c'est-à-dire apporter un bénéfice pour l'homme (Costanza et al., 1998). L'épuration de l'eau, la production de nourriture, la production d'énergie (pétrole, gaz, bio-carburants,...), la régulation du climat (séquestration du carbone) ou encore de nombreux bénéfices non matériels, tel que la patrimoine culturel sont autant de services écosystémiques fournis par les écosystèmes terrestres (Assessment & others, 2005).

Afin de garantir le maintien de ces services, il est indispensable que les fonctions écosystémiques soient maintenues. Or, comme nous allons le voir dans la section suivante, de nombreux facteurs sont susceptibles de perturber ces fonctions.

1.2.2. *Equilibre dynamique des écosystèmes*

Les écosystèmes sont caractérisés par un dynamisme constant qui leur permet généralement de se maintenir dans un état d'équilibre apparent. Holling et al. (1995) proposent une description de ce dynamisme en quatre étapes successives. La première étape est celle de « l'exploitation » des niches par les espèces pionnières, la niche d'un organisme étant un hypervolume dont les paramètres physico-chimiques correspondent à ses besoins (Hutchinson, 1957). Plus précisément, du fait de l'interaction des différents individus pouvant partager une même niche, un organisme va occuper un espace qui peut être plus réduit. On parle alors de niche élaborée. Suite à l'étape « d'exploitation » vient l'étape de « conservation » où ont lieu différentes étapes de successions spécifiques partant schématiquement de l'herbacée annuelle pour arriver aux grands végétaux ligneux et atteindre un état d'équilibre apparent du point de vue des espèces qui occupent l'écosystème. Cette

équilibre peut ensuite être perturbé et mener au « décrochement » de l'écosystème de son point d'équilibre. Nous parlerons de facteurs de stress pour définir les facteurs pouvant mener à une étape de décrochement de l'écosystème. Ce terme étant souvent controversé, nous le définirons ici comme l'ensemble des contraintes que peut subir la biocénose et qui induisent une diminution du taux de croissance des individus, des dommages, voire leur mort. On peut par exemple citer la sécheresse, les incendies, ou encore le labour d'un sol agricole comme étant des facteurs de stress (Sousa, 1985; Jarvis, 2000).. Ces facteurs peuvent mener à des changements dans les niches écologiques (par exemple, la chute d'un arbre induit une ouverture dans la canopée et une plus grande exposition au soleil du sous bois forestier), permettant ainsi une recolonisation d'un espace par les espèces déjà présentes dans l'écosystème, voire par de nouvelles espèces. Cette colonisation est qualifiée d'étape de « réorganisation ». C'est cet équilibre dynamique, décrit par la succession de ces quatre étapes, qui permet la durabilité de l'écosystème, c'est-à-dire sa capacité à maintenir les fonctions et les services écosystémiques (Chapin et al., 1996). Il est important de souligner que la durabilité, telle que définie précédemment, diffère de la notion de persistance des écosystèmes. La persistance d'un écosystème désigne sa capacité à se maintenir à son état d'équilibre et à le retrouver rapidement suite à une perturbation (Holling, 1973). Un écosystème persistant est donc généralement caractérisé par une grande résistance, c'est-à-dire qu'il subit peu de changements suite à une perturbation. De plus, une grande persistance peut également être due à une grande résilience, c'est-à-dire une capacité de l'écosystème à revenir rapidement à un point d'équilibre (Holling, 1973). Comme deux points d'équilibre d'un écosystème peuvent mener aux mêmes fonctions et services, un écosystème durable n'est pas obligatoirement persistant. Toutefois, la durabilité d'un écosystème étant remise en compte lorsque le nouvel équilibre ne produit plus les mêmes fonctions écosystémiques, il apparaît clairement qu'un écosystème sera d'autant plus durable qu'il sera persistant.

L'équilibre atteint suite à l'étape de réorganisation peut être différent de celui de l'étape de conservation (Bengtsson et al., 2000). C'est notamment le cas lors de perturbations de forte amplitude ou sur une longue durée. Un exemple parlant est la désertification observée dans la région saharienne sous l'influence de la sécheresse prolongée (Lamprey, 1988). Dans ce cas extrême, le nouvel équilibre correspond à un biome différent passant de la savane au désert.

Lors de l'étape de décrochement précédemment décrite, de nouvelles niches écologiques sont créées. C'est le type de stratégie écologique des espèces colonisant ces niches qui va définir le point d'équilibre vers lequel tendra l'écosystème. On peut distinguer trois stratégies écologiques décrites par Grime (1974). La stratégie « R » correspond aux organismes rudéraux pouvant résister aux facteurs de stress ponctuel. Ces organismes sont caractérisés par des taux de croissance importants et un cycle de vie très court leur permettant de coloniser rapidement les niches créées par la perturbation. Les organismes de stratégie « C », pour compétitifs, sont quant à eux caractérisés par des taux de croissance plus longs mais sont capables d'exploiter les ressources du biotope plus efficacement que les organismes suivant les autres stratégies. Enfin la stratégie « S », pour résistantes aux facteurs de stress, concerne les organismes développant des systèmes de résistance et de défense (voir sections 3.2.2 et 4.1.2) nécessaires face aux facteurs de stress chroniques. En réalité, la stratégie écologique d'un organisme correspond à un mélange des trois stratégies susnommées, comme représenté sur la Figure 1.1. Ce sont les organismes ayant une stratégie optimale face au facteur de stress qui recoloniseront les nouvelles niches et définiront ainsi le nouvel équilibre de l'écosystème.

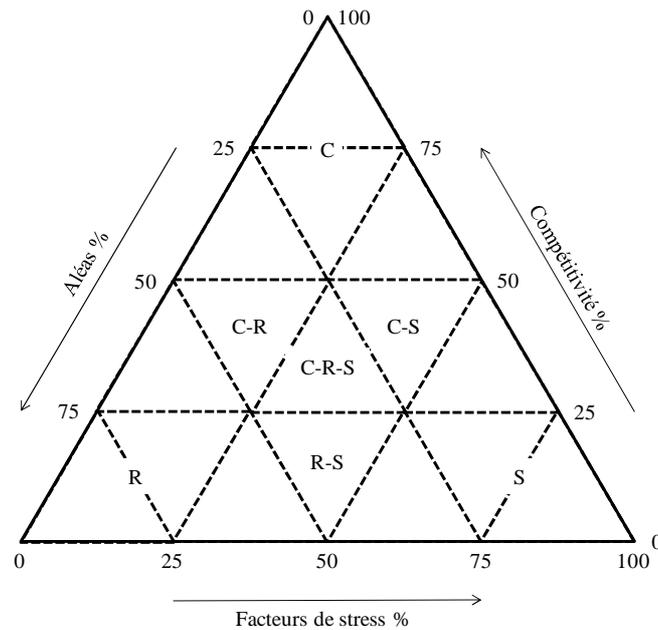


Figure 1.1 Répartition des organismes vivants selon les trois stratégies écologiques : compétitif (C), résistant aux aléas ou rudéraux (R) et résistant aux stress (S). D'après (Jarvis, 2000)

1.2.3. Diversité des perturbations anthropiques

Les facteurs perturbateurs de l'écosystème peuvent, comme nous l'avons vu, être d'origine naturelle dans le cas de la sécheresse ou des incendies. Ces facteurs peuvent également être d'origine anthropique. Par exemple, dans le cas d'un sol agricole, certaines de ses propriétés vont être modifiées par l'action de l'homme. Par exemple, le labour entrainera, entre autre, une modification de l'oxygénation et de l'humidité du sol. Ces nouvelles propriétés pouvant être délétères pour les organismes du sol (*i.e.* les microorganismes du sol anaérobies stricts ne peuvent pas se développer en présence d'oxygène dans le sol), le labour peut être considéré comme un facteur de stress. Les activités anthropiques peuvent également mener à l'émission de polluants dans les écosystèmes du sol. Nous utiliserons, dans ce travail la définition de Jarvis (2000), qui qualifie de polluants toutes les substances émises par les activités anthropiques et ayant un effet délétère sur le vivant, l'homme y compris. C'est à la fois pour leurs effets néfastes pour l'homme mais également parce que leur présence n'est pas

obligatoirement visible (contrairement à un incendie par exemple) que, parmi les facteurs de stress, l'étude des polluants des sols est d'un intérêt capital. En France, cet intérêt se retrouve dans la volonté du Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie (MEDDE) à répertorier et gérer les sols pollués. Cela représente, sur le territoire français plus de 2600 sites (Base de données Basol, 2015) dans lesquels les polluants présentent une grande diversité à la fois qualitative (Voir sections suivantes) et quantitative.

1.2.3.1. Les éléments traces métalliques

Les éléments traces sont les éléments dont l'abondance dans la croûte terrestre est inférieure à une concentration totale de 0,1 % pour chacun d'entre eux. Parmi ces éléments se trouvent les Eléments Traces Métalliques (ETM). Ils sont constitués de 62 métaux, auxquels s'ajoutent 6 métalloïdes, éléments qui ne peuvent être classés ni parmi les métaux, ni parmi les non-métaux. (Tableau 1.1). Leur abondance totale dans la croûte terrestre, est de 0,6 % (Baize, 1997). L'ensemble des ETM peut provoquer des effets néfastes sur les organismes (voir sections 3.2.3 et 4.1.1; Bargagli, 1998b).

Tableau 1.1 Table périodique classifiant les éléments chimiques. Les éléments traces métalliques, ensemble des 68 métaux et métalloïdes dont l'abondance dans la croûte terrestre ne dépasse pas les 0,6 %, y sont encadrés de rouge. D'après <http://www.ptable.com>.

Eléments traces métalliques

1 H Hydrogène 1,008	2 He Hélium 4,002602																
3 Li Lithium 6,94	4 Be Béryllium 9,012182	5 B Bore 10,81	6 C Carbone 12,011	7 N Azote 14,007	8 O Oxygène 15,999	9 F Fluor 18,998	10 Ne Néon 20,1797										
11 Na Sodium 22,989	12 Mg Magnésium 24,305	13 Al Aluminium 26,981	14 Si Silicium 28,085	15 P Phosphore 30,973	16 S Soufre 32,06	17 Cl Chlore 35,45	18 Ar Argon 39,948										
19 K Potassium 39,0983	20 Ca Calcium 40,078	21 Sc Scandium 44,955	22 Ti Titane 47,867	23 V Vanadium 50,9415	24 Cr Chrome 51,9961	25 Mn Manganèse 54,938	26 Fe Fer 55,845	27 Co Cobalt 58,933	28 Ni Nickel 58,6934	29 Cu Cuivre 63,546	30 Zn Zinc 65,38	31 Ga Gallium 69,723	32 Ge Germanium 72,63	33 As Arsenic 74,921	34 Se Sélénium 78,971	35 Br Brome 79,904	36 Kr Krypton 83,798
37 Rb Rubidium 85,4678	38 Sr Strontium 87,62	39 Y Yttrium 88,90584	40 Zr Zirconium 91,224	41 Nb Niobium 92,90637	42 Mo Molybdène 95,95	43 Tc Technétium (98)	44 Ru Ruthénium 101,07	45 Rh Rhodium 102,90	46 Pd Palladium 106,42	47 Ag Argent 107,8682	48 Cd Cadmium 112,414	49 In Indium 114,818	50 Sn Étain 118,710	51 Sb Antimoine 121,760	52 Te Tellure 127,60	53 I Iode 126,90	54 Xe Xénon 131,293
55 Cs Césium 132,90	56 Ba Baryum 137,327	57-71 Lanthanides	72 Hf Hafnium 178,49	73 Ta Tantale 180,94	74 W Tungstène 183,84	75 Re Rhenium 186,207	76 Os Osmium 190,23	77 Ir Iridium 192,217	78 Pt Platine 195,084	79 Au Or 196,96	80 Hg Mercure 200,59	81 Tl Thallium 204,38	82 Pb Plomb 207,2	83 Bi Bismuth 208,98	84 Po Polonium (209)	85 At Astaté (210)	86 Rn Radon (222)
87 Fr Francium (223)	88 Ra Radium (226)	89-103 Actinides	104 Rf Rutherfordium (261)	105 Db Dubnium (268)	106 Sg Seaborgium (271)	107 Bh Bohrium (272)	108 Hs Hassium (277)	109 Mt Meitnerium (276)	110 Ds Darmstadtium (281)	111 Rg Roentgenium (280)	112 Cn Copernicium (285)	113 Nh Nihonium (284)	114 Fl Flerovium (289)	115 Uup Ununpentium (288)	116 Lv Livermorium (293)	117 Uus Ununseptium (294)	118 Uuo Ununoctium (294)

Ces éléments peuvent être trouvés naturellement en fortes concentrations dans les sols. En effet, certains sols sont caractérisés par des fonds géochimiques (*i.e.* teneur naturelle en un élément dans une strate du sol) riches en ETM (Baize, 1997). C'est le cas des sols ultramafiques, qui contiennent d'importantes teneurs en Ni, Cu, Co et Mn (Bani et al., 2010). Toutefois, hormis ces cas particuliers, leur présence est liée à des activités anthropiques et ils sont alors qualifiés de « polluants inorganiques ». Dans le cas de la France, la pollution des sols par les ETM représente plus de 1300 sites, soit près de 50 % des sites suivis par le MEDDE (Base de données Basol, 2015). Les ETM les plus représentés dans des cas avérés de pollution du sol sont l'arsenic, le cadmium, le chrome, le cuivre, le mercure, le nickel, le plomb et le zinc (Tableau 1.2).

Tableau 1.2 Diversité de la pollution en éléments traces métalliques (ETM) et polluants organiques dans les sites suivis par le ministère de l'écologie, du développement durable et de l'énergie. Source : base de données Basol 2015.

Diversité de la pollution en France											
	ETM								Polluants organiques		
	As	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn	HAP	PCB	Pesticides
nombre de sites en France	177	85	189	188	74	135	245	140	226	74	18
Pourcentage de sites en France (%)	6,76	3,23	7,24	7,17	2,83	5,16	9,35	5,36	8,65	2,82	0,69

Les activités minières et métallurgiques (*i.e.* industries qui purifient ou transforment des métaux) sont les principales sources d'ETM (Fliessbach et al., 1994; McGrath et al., 2001; Cui et al., 2004). Plus précisément, dans le cas des activités minières, 90 % de la matière excavée constitue des déchets dans lesquels se trouvent les ETM et généralement des acides, composés utilisés dans les procédés de purification des minerais. Les ETM retrouvés dans ces terres excavées sont ceux prospectés dans les mines, c'est-à-dire le plomb, le cuivre, ou encore le zinc, ainsi que les composés retrouvés dans les mêmes minerais, tels que l'arsenic et l'antimoine dans le cas de l'exploitation des minerais aurifères (Bargagli, 1998a). En ce qui concerne les industries métallurgiques, les sols pollués représentent généralement de petites surfaces mais sont multi-pollués et ont des teneurs très élevées en polluants du fait que les polluants sont quasiment les seuls déchets et donc ne sont pas dilués (Cui et al., 2004). Toutefois, dans le cas des fonderies, une partie de la pollution est émise par voie atmosphérique, ce qui provoque aussi une multi-pollution mais à des teneurs plus faibles, au détriment d'une surface polluée plus grande (Bargagli, 1998b). Les ETM représentent donc une grande diversité de pollution, dépendant principalement de la source de leurs émissions (Tableau 1.3). Du fait que les ETM sont les polluants majoritairement retrouvés dans les sites

suis par le ministère de l'écologie, du développement durable et de l'énergie, l'accent sera porté sur leurs impacts dans ce travail de thèse.

Tableau 1.3 Principales sources anthropiques d'ETM. D'après (O'Connell et al., 2008)

Sources anthropiques en ETM			
	ETM	Caractéristique de la pollution	Sources
Mines de métaux	Cd, Cu, Ni, Cr, Co, Z	Reliquat d'acide de drainage, résidus de métaux, terrils	Babich et al., 1985 Aswathanarayana, 2003
Intrants agricoles	Cr, Mo, Pb, U, V, Zn	Ruissellement, pollution des eaux superficielles et souterraines, bioaccumulation dans les plantes	Nicholson et al., 2003 Otero et al., 2005
Boue d'épuration	Zn, Cu, Ni, Pb, Cd, Cr, As, Hg	transfert dans les eaux de surface et souterraines	Nicholson et al., 2003 Cheung et Wong, 1983 Walter et al., 2006
Industries métallurgiques	Pb, Mo, Ni, Cu, Cd, As, Te, U, Zn	résidus de métaux et terrils	Alloway et Ayres, 1993 Rule et al., 2006 Cheng, 2003
Elimination des déchets	Zn, Cu, Cd, Pb, Ni, Cr, Hg	lessivage des zones de décharge, transfert dans les eaux de surface et souterraines	Kjeldson et al., 2002 Fernandez et al., 2005
Electronique	Pb, Cd, Hg, Pt, Au, Cr, As, Ni, Mn	déchets solides et liquides provenant des procédés de fabrication et de recyclage	Veglio et al., 2003
Industries de finition des métaux	Cr, Ni, Zn, Cu	Effluent liquide produit par les procédés de galvanisation et plaquage	Castelblanque et Salimbeni, 2004 Zhao et al., 2009 Alvarez-Ayuso et al., 2007
Batteries	Pb, Sb, Zn, Cd, Ni, Hg	Ecoulement du liquide des batteries contaminant le sol et les eaux souterraines	EU Directorate general of the environment, 2004
Peintures et pigments	Pb, Cr, As, Ti, Ba, Zn	Déchets liquides lors de la production et détérioration des peintures, pollution du sol	Daid et Burns, 1999 Barnes et Davis, 1996 Monken, 2000

1.2.3.2. Polluants organiques

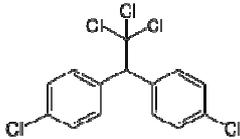
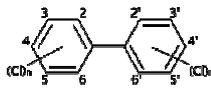
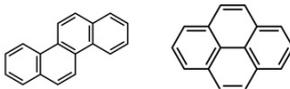
A côté des ETM, des polluants organiques sont également présents mais en moindre mesure lorsque l'on compare le nombre de sites qualifiés de «pollués» dans la base de donnée BASOL (Tableau 1.2). Avec seulement 18 sites pollués suivis sur le territoire français, nous trouvons d'abord les pesticides (Tableau 1.4). Ce sont des substances répandues par l'homme dans un écosystème afin de diminuer ou détruire une ou des communautés qualifiées de néfastes pour les activités anthropiques. On peut notamment citer le dichlorodiphényltrichloroéthane ou DDT, un insecticide (pesticide spécifique d'une communauté d'insectes) qui a été longuement utilisé dans la lutte contre le moustique, principal vecteur de la malaria (Walker, 2009a).

Plus représenté parmi les sites suivis par le MEDDE, avec 74 sites pollués, le second groupe de polluants organiques le plus représenté est celui des Polychlorinate Biphenyls ou PCB (Tableau 1.4). Ce groupe comporte 130 composés qui ont été utilisés entre les années 30 et 60 pour leur propriété d'isolant électrique et lubrifiant (Schwarzenbach et al., 2003).

Parmi l'ensemble des polluants organiques, les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) sont les polluants organiques présents sur le plus grand nombre de sites suivis par le MEDDE, avec plus de 8 % des sites concernés par cette pollution (Tableaux 1.2 et 1.4). Comme leur nom l'indique, ces polluants regroupent l'ensemble des composés dont la structure est composée d'un assemblage de cycles aromatiques (Walker, 2009b). Contrairement aux polluants organiques précédemment cités, les HAP ne sont pas produits intentionnellement. En effet, les HAP sont produits lors de la combustion incomplète de gaz, charbon, hydrocarbure, et de bois. Ils peuvent être produits par des activités anthropiques telle que la production d'énergie dans les centrales à charbon, et sont également produits lors d'incendies forestiers ou tout simplement présents dans les hydrocarbures naturels (Walker, 2009d; Biache et al., 2014). Du fait de leur structure, les HAP sont des composés très peu

réactifs, et, par conséquent, ils n'induisent pas directement d'effets délétères sur les organismes vivants. Leur toxicité vient de leur transformation par les enzymes telles que les cytochromes, protéines du système respiratoire. Cette réaction produit des époxydes et autres dérivés hydroxylés, composés se liant aux protéines, ADN et ARN des organismes et perturbant leur fonctionnement (Buening et al., 1978; Walker, 2009b). Bien que les HAP dits légers (1 à 3 cycles) soient facilement transportés par voie aérienne globalement, les HAP sont peu mobiles. En effet, du fait de leur forte hydrophobicité, ces composés se retrouvent peu présents dans le compartiment aquatique et se lient rapidement à la matière organique du sol et des sédiments (Environmental Health Criteria 202, 1998).

Tableau 1.4 Propriétés notables, source et structure des principaux polluants organiques

Description des principaux polluants organiques			
	Pesticides	PCB	HAP
Persistence	Dégradabilité très variable, peu fortement s'accumuler	Peu dégradable et grande diversité, persistant	Dégradable, fortement lié à la matière organique du sol
Utilisation	Elimination de communautés d'organismes nuisibles Exemple : moustiques vecteurs de la malaria	Isolant électrique dans les transformateurs, lubrifiant	Produit par combustion incomplète (incendie, centrale à charbon,...)
Formule	 <p>dichlorodiphényl-trichloroéthane (DDT)</p>	 <p>Formule générale</p>	 <p>Chrysène, pyrène</p>
Source	Bailey et al., 1974 Walker, 2009	Schwarzenbach et al., 2003 Walker, 2009	Walker, 2009 Biache et al., 2014

1.2.3.3. Toxicité des polluants

Comme nous venons de le décrire, les sols pollués sont caractérisés par une grande diversité de pollutions majoritairement dominées par les ETM et les HAP. Cette diversité est vraie aussi bien d'un point de vue qualitatif que dans les teneurs dans les sols et est principalement liée à l'activité anthropique ayant été la source de cette pollution. La réponse de l'écosystème face aux facteurs perturbateurs que représentent les différents polluants va dépendre de la toxicité de chacun des polluants impliqués. Nous définirons ici la toxicité d'un polluant comme la mesure des effets néfastes qu'il provoque sur un organisme. Classiquement, cette toxicité est mesurée par la Dose Létale à 50 % (DL50). Cette méthode mise au point par Trevan (1927) vise à déterminer la quantité d'un polluant induisant la mort de 50 % d'une population d'un organisme donné pendant une durée limitée. Cette méthode de mesure montre toute la complexité de la notion de toxicité. En effet, cette technique souligne le fait que, comme il l'a été décrit par Juste (1988), la toxicité d'un élément va dépendre à la fois du polluant et de l'organisme qui y est exposé.

Dans les sections suivantes, nous décrirons les paramètres qui influencent la toxicité en ce plaçant d'abord du côté du polluant, en s'intéressant notamment aux paramètres qui vont influencer la concentration en ces polluants à laquelle les organismes seront exposés. Puis nous nous placerons du côté des organismes en s'intéressant en particulier aux mécanismes de défenses leurs permettant de réduire la toxicité d'un polluant envers eux.

a. Mobilité des polluants

Une concentration élevée en polluants dans le sol ne signifie pas que les organismes y sont exposés. Par exemple, si le polluant se trouve fixé à certaines structures du sol, alors tout organisme n'évoluant pas directement en contact avec cette structure ne sera pas exposé au polluant. Ce constat souligne que la quantité de polluant pouvant influencer les organismes va

premièrement dépendre de la mobilité de ces polluants. Par mobilité, nous entendons la capacité d'un polluant à passer dans une phase du sol dans laquelle il est le moins énergétiquement retenu (Juste, 1988). Ainsi, un polluant fortement mobile sera plus apte à rentrer en contact avec un organisme et donc plus susceptible d'induire des effets délétères.

De nombreux paramètres du sol sont susceptibles d'influencer cette mobilité. Tout d'abord la teneur en matière organique et notamment les complexes humiques qui fixent fortement les polluants chargés par complexation (Al-Chalabi & Hawker, 2000; Turer & Maynard, 2003). Cela est particulièrement vrai pour les polluants chargés positivement (Cd, Zn, Pb,...) du fait que les particules du sol sont chargées négativement. Par ailleurs, les complexes humiques, au sein de la matière organique, permettent également des interactions non-covalentes avec les cycles aromatiques des HAP notamment. Le pH joue également un rôle dans la mobilité des polluants. En effet, une acidification du sol va induire une décomplexation de ces derniers avec la matière humique (Sauve et al., 2000; Elzahabi & Yong, 2001; Kabala & Szerszeń, 2002). Cela s'explique par un changement dans la spéciation des éléments (Masscheleyn et al., 1991).

Au-delà de l'influence des paramètres du sol, la mobilité d'un polluant est avant tout dépendante de sa structure. Comme le montre le Tableau 1.4, les HAP ont une structure les rendant hydrophobes et liposolubles, ce qui leur permet de fortement se fixer à la matière organique du sol et donc d'être peu mobiles (Environmental Health Criteria 202, 1998).

b. La biodisponibilité et son évaluation

La mobilité d'un polluant ne garantit pas que celui-ci puisse influencer un organisme. En effet, les organismes ont une capacité variable à absorber le polluant, capacité dépendant à la fois de la nature du polluant et de l'organisme. Afin de décrire cette capacité, Juste (1988) proposa le concept de biodisponibilité, qu'il décrivit comme étant la fraction d'un élément du sol pouvant être absorbé par les racines des plantes, les microorganismes ou encore la faune du sol. Une façon d'évaluer cette biodisponibilité consiste à mesurer la quantité du polluant extractible du sol. Parmi les techniques les plus répandues, nous pouvons citer l'évaluation de la teneur extractible au chlorure de calcium. Cette technique, initialement mise au point par (Houba et al., 1990) puis normalisée en 1996 (NEN 5704), consiste à saturer la matière organique du sol à l'aide de chlorure de calcium afin d'y désorber les éléments fixés.

Plus récemment (2004), afin de tenir compte de la capacité de l'organisme à assimiler ou non le polluant, « l'international organization for standardization » à mise à jour cette définition : « La biodisponibilité d'une substance chimique est le degré auquel cette dernière peut être absorbée ou métabolisée par un récepteur humain ou écologique, ou puisse être disponible pour interaction avec des systèmes biologiques (ISO/DIS 11074). » La principale évolution entre cette définition et celle de Juste (1988) est le fait que la biodisponibilité n'est plus vue comme une fraction d'un élément dans le sol mais par une teneur dans l'organisme. De cette seconde définition découle d'autres méthodes d'évaluation de la biodisponibilité qui sont cette fois focalisées sur les organismes et qui consistent à mesurer la quantité totale d'un polluant extrait par un organisme depuis le sol ou un lixiviat de sol. On parle alors de biotests. Nous pouvons, par exemple, citer les travaux de (Scheifler et al., 2003), ayant aboutis à la norme ISO 15952 (2006) visant à l'évaluation de la quantité d'ETM biodisponible par quantification de ces éléments dans l'escargot *Helix aspersa* après son exposition sur sol pollué pendant 28 jours.

Dans cette thèse, lorsque la biodisponibilité sera évoquée, nous ferons référence à la définition la plus récente. Toutefois, pour des raisons de simplification expérimentale, son évaluation sera basée sur une mesure de la quantité de polluants extractible du sol.

c. Sensibilité des organismes aux polluants

A quantité biodisponible identique, un polluant n'aura pas la même toxicité vis-à-vis de deux organismes différents (Tableau 1.5). Lors de leurs travaux, (Bingham et al., 1975) ont montré que 13 espèces d'intérêt agronomique toléraient des teneurs en Cd biodisponible très variables avant de présenter des signes d'effets néfastes du polluant. Cela souligne particulièrement bien la variabilité de sensibilité des organismes aux polluants. Cette tolérance variable vis-à-vis d'un polluant dépend tout d'abord de la capacité de l'organisme à absorber le composé (Guerin & Boyd, 1992). A cela s'ajoutent également les mécanismes de résistance mis en place par les organismes, qui vont diminuer la toxicité d'un polluant pour un organisme donné (voir sections 3.2.2 et 4.1.2).

Tableau 1.5 Variabilité de la tolérance de 13 espèces végétales d'intérêt agronomique face à une pollution en Cd. La NOEC (No Observed Effect Concentration) est la concentration maximale en un polluant que peut tolérer une plante avant de montrer des signes d'effet délétère. D'après (Bingham et al., 1975).

Toxicité du Cd	
	NOEC ($\mu\text{g g}^{-1}$)
<i>Phaseolus vulgaris</i>	20
<i>Glycine max</i>	2,5
<i>Triticum aestivum</i>	20
<i>Zea mays</i>	10
<i>Lycopersicon esculentum</i>	80
<i>Cucurbita pepo</i>	80
<i>Brassica oleracea</i>	120
<i>Lactuca sativa</i>	5
<i>Lepidium sativum</i>	5
<i>Brassica rapa</i>	10
<i>Raphanus sativus</i>	40
<i>Daucus carota</i>	10
<i>Oryza sativa</i>	160

Dans le cas particulier des ETM, la tolérance des plantes vis-à-vis du polluant peut prendre deux profils différents. En effet, certains ETM comme le fer, le zinc et le cuivre sont dit essentiels, c'est-à-dire qu'ils sont indispensables au développement de l'organisme (Gallego et al., 2012). Ainsi, une diminution de la concentration de ces métaux dans l'organisme induit des signes de carence. Le zinc, par exemple, se trouve dans certaines métalloprotéines, favorisant leur activité et stabilisant leur structure, et est également impliqué dans la synthèse de la chlorophylle (Underwood, 1977). En opposition, les éléments non essentiels sont définis comme n'ayant aucun intérêt biologique pour les organismes (Gallego et al., 2012). Ainsi, la relation entre l'état physiologique et la concentration en ETM varie selon que le métal soit essentiel ou non pour l'organisme (Figure 1.2). Dans le cas des ETM essentiels, l'organisme

présentera un bon état physiologique à condition d'avoir une teneur optimale en ces éléments. En deçà de cette teneur, l'organisme présentera des symptômes liés à la carence. Au-delà de cette teneur, des symptômes liés à la toxicité des ETM. Dans le cas des ETM non essentiels, l'organisme présentera un bon état physiologique pour des teneurs allant de l'absence de l'élément à une teneur au-delà de laquelle des effets délétères apparaîtront.

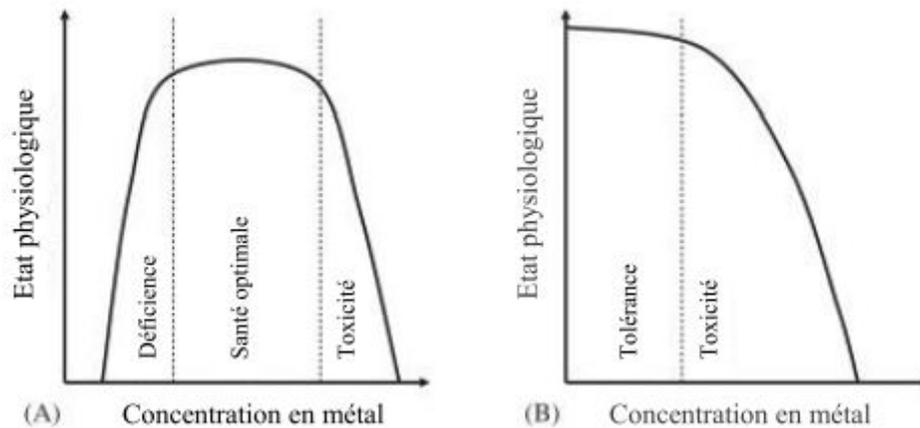


Figure 1.2 Réponse physiologique des végétaux en fonction d'une augmentation de la teneur dans le sol en métaux essentiels (A) ou non-essentiels (B). D'après (Wood, 2011)

L'ensemble des sections précédentes nous a permis de montrer que les polluants du sol sont des facteurs de stress dont l'étude présente un intérêt majeur en vue de la gestion du nombre important de sites pollués sur le territoire français. La compréhension de l'effet de ces polluants à l'échelle de l'écosystème semble d'une grande complexité et cela pour plusieurs raisons. Tout d'abord, chaque polluant présente une toxicité qui lui est propre et qui peut être influencée par les conditions physico-chimiques du sol définissant sa mobilité et sa biodisponibilité. De plus, dans les sites pollués les polluants sont généralement en mélange. Concernant les organismes, eux aussi ajoutent de la complexité du fait que chacun d'eux va présenter une tolérance variable à chaque polluant, dépendant de la capacité de l'organisme à absorber le polluant et à y résister. De plus, dans les écosystèmes, les organismes ne sont pas

isolés mais organisés en communautés interagissant entre elles, ce qui ajoute encore de la complexité à la compréhension des effets des polluants sur les écosystèmes. Ainsi, évaluer l'effet des polluants sur la durabilité des écosystèmes du sol semble indissociable à la mesure d'une ou plusieurs fonctions écosystémiques afin de s'affranchir d'une grande part de complexité précédemment décrite.

2. La décomposition de la litière : une fonction écosystémique d'importance

2.1. Les processus de la décomposition

La décomposition de la matière organique désigne l'ensemble des processus qui induisent la transformation de la matière organique morte en énergie et en molécules plus simples dont font partie les nutriments (Wardle et al., 2004; Gessner et al., 2010). On estime que plus de 50% de la production primaire, en écosystème terrestre, est décomposée chaque année (Cebrian, 1999). La décomposition de la matière organique est un ensemble de processus de grande importance pour l'écosystème car elle permet, avec la production primaire, la réalisation des cycles biogéochimiques dont dépendent la quantité de nutriments disponibles dans l'écosystème ainsi que la quantité de carbone stockée (Wardle et al., 2004; Gessner et al., 2010).

La décomposition regroupe à la fois les processus de l'humification qui produit l'humus, un ensemble complexe de molécules organiques qui s'associent aux autres éléments structuraux du sol (Guggenberger, 2005), et également les processus de la minéralisation qui aboutit à la formation d'ions minéraux. (Wardle et al., 2004; Gessner et al., 2010). La décomposition résulte à la fois de processus de fragmentation et de dégradation chimiques et enzymatiques (Aerts, 1997). Tout d'abord, une partie des processus est réalisée abiotiquement. Il s'agit principalement du lessivage des litières sous l'action des précipitations. Cela consiste en un entraînement par l'eau hors de la litière des composés hydrosolubles tels que la plupart des

ions minéraux et une partie de la matière organique dite soluble (Kalbitz et al., 2000). Par ailleurs, de manière plus anecdotique, des composés organiques de la litière, en absorbant les rayonnements solaires ultraviolets, vont partiellement se dégrader. On parle de minéralisation photochimique (Austin & Vivanco, 2006). Concernant les processus biotiques, la fragmentation physique de la litière résulte de l'action combinée du vent, du piétinement par la mégafaune, et surtout de la consommation par la faune du sol dite détritivores. Les détritivores sont la partie de la faune du sol (des invertébrés principalement) dont la matière organique morte, intacte ou partiellement décomposée, entre dans le régime alimentaire (Jarvis, 2000). La consommation de la litière, en plus des fragments de litière, va également produire des fèces qui sont des déjections constituées de matière organique partiellement digérée (Tajovsky et al., 1992).

En parallèle de ces phénomènes physiques, les microorganismes du sol vont coloniser la litière et également les fèces produits par les détritivores (David, 2014). Les champignons, notamment les champignons filamenteux, ont une croissance en hyphes qui leur confère la capacité de perforer les tissus de la litière et donc d'accéder aisément aux ressources qu'elle contient (Klein & Paschke, 2004). Par ailleurs, leur structure en hyphes leur permet également de se développer même lorsque la litière ne procure pas l'humidité qui leur est nécessaire en captant l'eau du sol (Klein & Paschke, 2004). Les bactéries également, colonisent la litière se développant à la surface et profitent aussi des ouvertures provoquées par la pénétration des champignons filamenteux. Ces microorganismes vont développer des activités enzymatiques leur permettant de dégrader les composés de la litière. Par exemple, les basidiomycètes produisent la lignine peroxydase leur permettant de dégrader la lignine (Li et al., 1995; Robertson et al., 2008; Dungait et al., 2012). L'action enzymatique des microorganismes est particulièrement importante car la lignine représente 10 à 20 % de la masse de la litière et n'est décomposée que par ces organismes (Melillo et al., 1982).

2.2. Interaction entre les groupes fonctionnels

Nous avons décrit que la décomposition de la litière résultait de l'action combinée des détritivores (consommation et fragmentation de la litière) et des microorganismes (activités enzymatiques). Ces actions, loin d'être indépendantes, sont étroitement liées, ce qui souligne l'importance qu'ont ces deux groupes fonctionnels dans les processus de la décomposition.

La fragmentation physique de la litière, sous l'action des détritivores, permet une plus grande activité enzymatique par les microorganismes (Aerts, 1997). En effet, du fait de la fragmentation, les particules de litière présentent un rapport surface sur volume plus important, ce qui favorise la colonisation par les microorganismes (Dungait et al., 2012). Par ailleurs, les détritivores ont généralement un faible taux d'assimilation, ce qui, par conséquent, implique que les fèces qu'ils produisent contiennent encore une grande quantité de matière organique. Ce mélange de matière organique non digérée, de particules minérales et de microorganismes du sol présente un pH, une capacité de rétention en eau et un ratio surface/volume plus importants que la litière (Tajovsky et al., 1992). Ce sont autant de paramètres qui influencent positivement la colonisation par les microorganismes. L'action des détritivores est donc fortement bénéfique pour le développement microbien (Hättenschwiler & Bretscher, 2001; Hedde et al., 2007) et, par conséquent, bénéfique également pour la décomposition de la litière (Wall et al., 2008).

Par ailleurs, la colonisation des litières par les microorganismes favorise en retour l'activité des détritivores. En effet, ces derniers consomment majoritairement les microorganismes se développant dans ou à la surface des litières (Beare et al., 1992). En considérant deux litières identiques, celle qui sera la plus colonisée par les microorganismes sera la plus consommée par les détritivores.

2.3. Contrôle des processus de la décomposition

Trois groupes de facteurs influencent la décomposition de la litière : le biotope, la qualité de la litière et l'activité des détritivores et des microorganismes décomposeurs (Coûteaux et al., 1995; Aerts, 1997).

Les propriétés physico-chimiques du biotope sont généralement les facteurs influençant le plus le taux de décomposition de la litière, surtout à long terme. Par exemple, Berg et al. (1993) ont montré qu'en prenant en compte à la fois les paramètres climatiques et les caractéristiques de la litière, l'évapotranspiration et la température atmosphérique moyennes de l'année peuvent expliquer 70 % de la variation du taux de décomposition observée entre 39 sites répartis en Europe et à l'est des Etats-Unis. Ici, l'évapotranspiration correspond à la quantité d'eau libérée par le sol et la végétation dans l'atmosphère, dépendant évidemment de la température du sol et de son humidité mais également de la végétation. Parmi les trois facteurs climatiques avancés par Berg et al. (1993), la température, et plus particulièrement celle du sol, est le paramètre climatique auquel la décomposition est la plus corrélée positivement (Davidson & Janssens, 2006). Le régime de précipitation est quant à lui le principal facteur définissant l'humidité du sol, paramètre auquel le taux de décomposition est également fortement positivement corrélé (Swift et al., 1979; Austin & Vitousek, 2000). En plus des facteurs climatiques, la structure physique du sol a également une importance dans les processus de la décomposition. Cette structure va dépendre de la porosité du sol, porosité qui si elle est grande, permet une meilleure oxygénation et une humidité plus importante du sol, paramètres dont dépend la décomposition (Kuka et al., 2007; Bachmann et al., 2008).

Ce travail de doctorat étant focalisé sur l'étude de l'effet des polluants sur le fonctionnement de l'écosystème, l'ensemble des autres paramètres physico-chimiques pouvant influencer le taux de décomposition, décrits dans cette section, seront considérés comme des facteurs confondants. Ils seront systématiquement évalués dans nos expérimentations afin de les prendre en compte et, dans la mesure du possible, ils seront contrôlés. Dans les sections

suivantes, nous nous focaliserons sur les autres catégories de facteurs pouvant affecter la décomposition de la litière, à savoir celles liées à la qualité de la litière et aux acteurs de la décomposition (Aerts, 1997)

3. Les végétaux : producteurs de la litière

3.1. Paramètres de la qualité de la litière de feuille

Les paramètres de la qualité de la litière sont l'ensemble des paramètres de cette litière pouvant influencer sa décomposabilité, c'est-à-dire sa vitesse de décomposition potentielle (Cadisch & Giller, 1997; Coûteaux et al., 1995). Dans les sous-sections suivantes, nous décrirons ces paramètres de la qualité qui relèvent à la fois de la composition biochimique et des propriétés physiques de la litière.

3.1.1. Composition élémentaire

Parmi les paramètres définissant la qualité de la litière se trouve la composition en éléments chimiques et particulièrement celle en azote et en phosphore (Aerts, 1997; Qualls & Richardson, 2000; Agren et al., 2001; Güsewell & Verhoeven, 2006). On observe que le taux de décomposition de la litière est positivement corrélé aux teneurs en azote et en phosphore (Zhang et al., 2008; Van Nevel et al., 2014). En effet, ces deux éléments sont indispensables au développement des communautés de microorganismes et à leurs activités enzymatiques (Conn & Dighton, 2000).

En plus de leurs teneurs totales dans la litière, la proportion entre ces différents éléments a également une importance dans la définition de la qualité. On parle alors de qualité stoechiométrique (Elser et al., 2000), qui est notamment évaluée à l'aide de la mesure des ratios tels que le C:N, le C:P ou le N:P (Güsewell & Gessner, 2009). Intuitivement, un C:N et

un C:P faibles indiquent que la litière est de bonne qualité et sera rapidement décomposée (Enriquez et al., 1993). En effet, le carbone étant dans la majorité des cas l'élément le moins limitant dans l'écosystème, de faibles valeurs de ces ratios indiquent que les éléments potentiellement limitants sont en abondance. Toutefois, le principal intérêt de l'évaluation de la qualité stœchiométrique de la litière réside en la comparaison des ratios élémentaires de la ressource (ici la litière) avec ceux des consommateurs (ici les acteurs de la décomposition). En effet, la ressource sera d'une qualité stœchiométrique optimale pour un organisme lorsque la proportion entre les différents nutriments de la ressource est la plus proche des besoins de l'organisme (maintenance, croissance, reproduction,...) (Sturner & Schulz, 1998). Enfin, le ratio N:P présente également un autre intérêt que ceux précédemment décrits. Dans une étude de colonisation de filtre de cellulose réalisée par (Güsewell & Gessner, 2009), il a été montré qu'un faible ratio N :P induisait une colonisation dominée par les bactéries. Inversement, un fort ratio N :P induisait une colonisation dominée par les champignons. Ces résultats tendent à montrer que l'azote est plus limitant que le phosphore pour la communauté fongique et inversement pour les bactéries. La mesure du ratio N:P est donc un outil potentiellement prédictif de la colonisation de la litière par les microorganismes.

En plus de l'azote et du phosphore, d'autres éléments tels que le potassium, le calcium et le magnésium sont aussi importants dans la définition de la qualité de la litière (Zhang et al., 2008). Notamment, le calcium est connu pour son importance pour le développement fongique (Gage et al., 2001) et le magnésium pour celui des bactéries (Vincent, 1962).

Les teneurs en ces différents éléments dans la feuille dépendent de l'espèce végétale mais aussi de la richesse du sol. Les plantes se développant sur milieu pauvre auront tendance à produire des feuilles avec de faibles teneurs en nutriments (Wright & Westoby, 2003; Hättenschwiler et al., 2008). Les végétaux ayant tendance à réassimiler les éléments des feuilles lors de la sénescence, d'autant plus que ces éléments sont limitant dans le sol

(Vitousek, 1998), les litières produites sur sol carencé seront d'autant plus pauvres en nutriments comparées à des litières produites sur des sols non carencés (Figure 1.3).

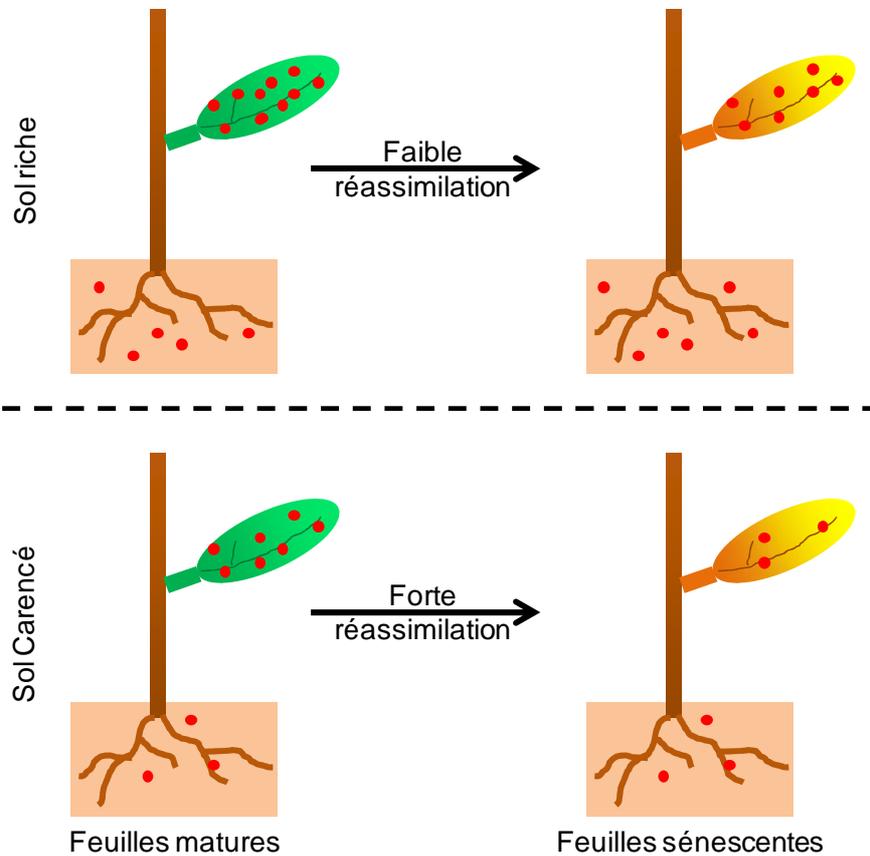


Figure 1.3 Relation entre l'abondance des nutriments dans le sol et la qualité élémentaire des feuilles sénescentes formant la litière. Les points rouges représentent la teneur en un élément tel que l'azote dans le sol, les feuilles matures et les feuilles sénescentes. Sur sol carencé, les plantes réassimilent plus les nutriments de leurs feuilles lors de la sénescence ce qui induit des teneurs en nutriments dans les litières d'autant plus faibles.

Garcia-Palacios et al. (2013) ont démontré que, pour la majorité des milieux forestiers, le climat impactait également la qualité de la litière (Figure 1.4), notamment à travers le ratio C:N. Cet effet du climat peut en partie s'expliquer par la quantité de précipitations reçue par la plante. En effet, il a été montré qu'une augmentation de celles-ci engendrait une augmentation de la teneur en azote des feuilles (Austin & Vitousek, 2000) ce qui, par conséquent, influence le ratio C:N. Par ailleurs, d'autres paramètres climatiques influencent les teneurs élémentaires des feuilles et par conséquent des litières. On peut notamment citer l'exposition prolongée des feuilles aux UV qui engendre une augmentation de leurs teneurs en azote (Yue et al., 1998).

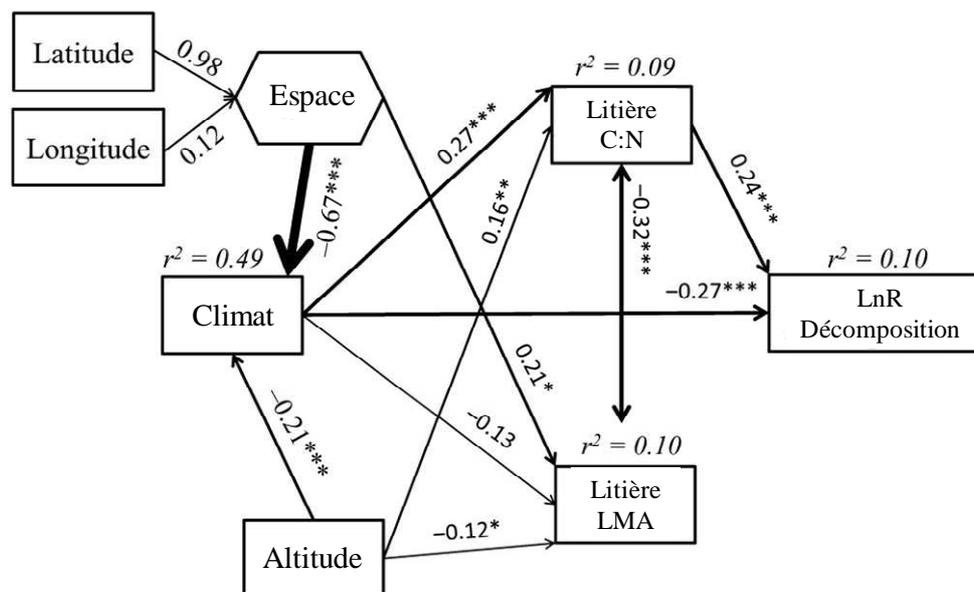


Figure 1.4 Modèle global décrivant l'effet direct et indirect de l'altitude, des coordonnées spatiales, du climat et des traits de la qualité de la litière (C:N et LMA) sur le taux de décomposition de la litière (LnR). Chaque rectangle représente une variable du modèle. La latitude et la longitude ont été rassemblées dans la variable « espace ». Le climat représente la valeur de la première composante d'une ACP basée sur les valeurs de précipitation totale et mensuelle et sur la température minimale. Les étoiles représentent la p-value des variables dans le modèle (*** $P < 0,001$; ** $P < 0,01$; * $P < 0,05$).

D'après (Garcia-Palacios et al., 2013)

3.1.2. Les composés phénoliques

La décomposabilité d'une litière va dépendre de la facilité qu'auront les acteurs de la décomposition à dégrader les composés carbonés de la litière. En effet, la forme du carbone dans la litière va définir sa récalcitrance vis-à-vis de l'action des acteurs de la décomposition. Parmi les composés phénoliques, présents dans la litière se trouvent les formes de carbone les plus récalcitrantes à la décomposition, notamment la lignine et les tanins (Gessner et al., 2010; Hättenschwiler & Jørgensen, 2010). Les composés phénoliques représentent une grande classe de composés secondaires dans laquelle se trouvent la lignine, les tanins et certains pigments tels que les anthocyanes (Figure 1.5). La lignine est produite par les végétaux afin d'en garantir la rigidité. Cette rigidité est apportée par sa structure tridimensionnelle basée sur de longues chaînes carbonées avec des ramifications et des liaisons suivant un plan d'organisation irrégulier (Figure 1.5). Cette absence de structure régulière et cette tridimensionnalité rendent les attaques enzymatiques plus difficiles, ce qui explique que la lignine est une forme carbonée particulièrement récalcitrante à la décomposition (Dungait et al., 2012). Du fait de son caractère récalcitrant, de nombreuses études ont montré qu'une diminution de la décomposabilité d'une litière pouvait être expliquée par des teneurs plus grandes en lignine (Meentemeyer, 1978; Hobbie, 2000; Austin & Ballaré, 2010). Ainsi, du fait de l'importance de la composition élémentaire et de la lignine dans la qualité de la litière, le ratio lignine/N est également un bon indicateur de cette qualité (Hobbie, 2000; Walela et al., 2014). En effet, un faible ratio garantira pour le consommateur un apport en un élément limitant, l'azote, pour un faible investissement énergétique à consacrer à la dégradation de composés récalcitrants, ici la lignine, ce qui définit une bonne qualité stœchiométrique.

Parmi les composés phénoliques, les tanins diminuent également la qualité de la litière. Ils sont notamment produits dans le cadre des systèmes de défense contre l'herbivorie. En effet, les tanins ont pour propriété de précipiter les protéines, dont celles du système digestif des

herbivores, les rendant peu digestes (Hagerman, 2002). Par extension, cette capacité à précipiter les protéines s'étend au système enzymatique des détritivores (Niehaus & Gross, 1997; Schweitzer et al., 2004). Par ailleurs, les tanins inhibent également le développement de champignons impliqués dans la décomposition (Harrison, 1971; Schmidt et al., 2013). Il se pourrait que cet effet soit lié à la capacité des tanins à séquestrer les métaux essentiels tels que le cuivre et le zinc, les rendant ainsi moins disponibles pour les organismes du sol (Vitousek et al., 1994). Du fait de ces différentes propriétés des tanins, il en découle que le taux de décomposition d'une litière est inversement corrélé à sa teneur en tanins (Hättenschwiler and Vitousek, 2000 ; Graça, 2005).

Comme pour les teneurs élémentaires, les conditions physico-chimiques du biotope influencent également les teneurs en composés phénoliques des litières. La teneur en lignine, notamment, est plus grande lorsque les végétaux reçoivent des précipitations abondantes (Austin & Vitousek, 2000). Par ailleurs, le ratio lignine :N diminue d'autant plus que l'exposition de la feuille aux UV augmente (Cybulski et al., 2000). Enfin, la teneur en tanins est elle aussi influencée par le biotope. On peut notamment observer une augmentation de la teneur de ces derniers dans les feuilles en relation avec l'augmentation de l'exposition aux UV.

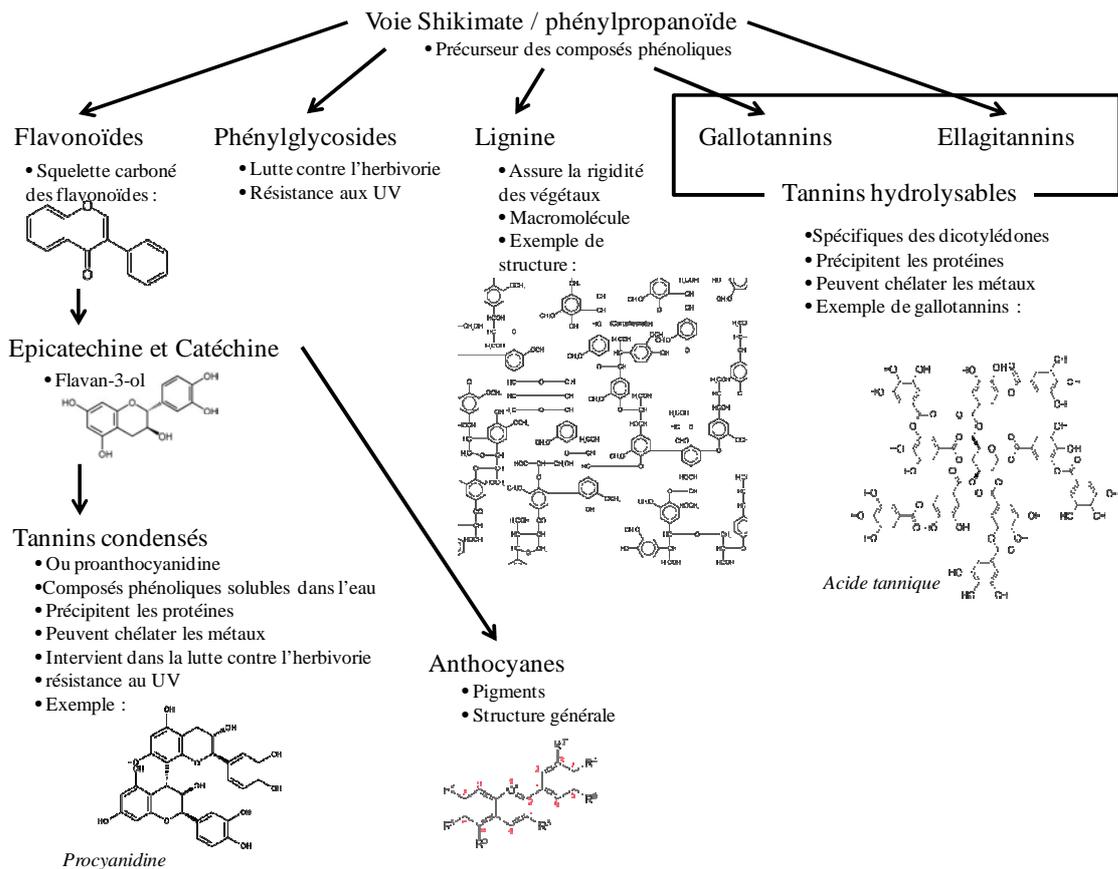


Figure 1.5 Classification, principales caractéristiques et structure des principaux composés phénoliques

3.1.3. La masse surfacique : un paramètre intégrateur de la structure de la feuille

La masse surfacique sèche (Leaf Mass per Area : LMA), ratio entre la masse sèche d'une feuille et sa surface (g cm^{-2}), est un paramètre intégrateur de l'état physique de la feuille. Le LMA a été utilisé pour la première fois comme outil intégrateur par (Hanson, 1917) et peut être décomposé en un produit entre la densité de la feuille (g cm^{-3}) et le ratio du volume par la surface ($\text{cm}^3 \text{cm}^{-2}$) (Poorter et al., 2009). Cette décomposition permet de mettre en relation la variation du LMA avec des variations de la physiologie de la feuille. A savoir qu'une densité forte est synonyme d'une feuille fortement lignifiée et/ou ayant un mésophylle important (Poorter et al., 2009). Il a été montré qu'une feuille ayant un faible LMA sera décomposée

plus rapidement qu'une feuille ayant un LMA plus important (Cornelissen et al., 1999; Diaz et al., 2004).

Au sein d'un individu, le LMA va varier en fonction de la position de la feuille dans la plante mais également en fonction du stade de développement de la feuille (Figure 1.6). Obtenir une valeur de LMA pour un individu doit donc tenir compte de cette variabilité dans le protocole de mesure. Par ailleurs, près de 36 % de la variation du LMA, toutes espèces confondues, est due aux variations interspécifiques, et plus précisément dépend du milieu dans lequel se développe l'organisme. Ainsi, le LMA le plus faible a été observé pour *Myriophyllum*, une plante aquatique, avec une valeur de 3 g m^{-2} , et atteint des valeurs de 2000 g m^{-2} pour la plante succulente *Agave deserti* (Poorter et al., 2009).

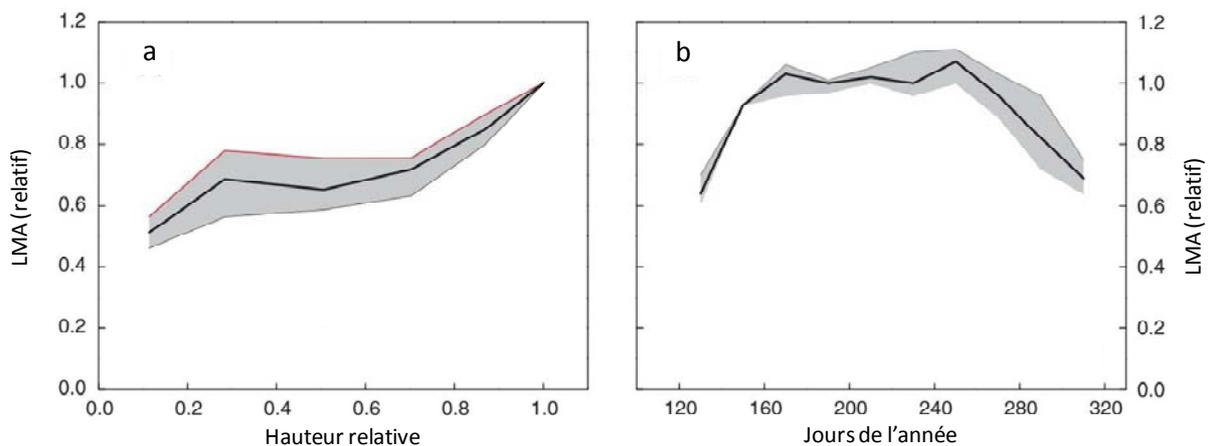


Figure 1.6 Variation du LMA au sein de la plante. (a) Variation du LMA (normalisé en fonction de la valeur des feuilles les plus hautes) de 13 espèces d'arbres en fonction de la hauteur de la feuille sur la plante. (b) Variation du LMA normalisé en fonction de la période de développement des feuilles de 13 espèces d'arbres. Pour les deux graphiques, la ligne noire en gras représente la valeur médiane et la surface grisée représente la variation entre le 25^{ème} et le 75^{ème} centile. D'après (Poorter et al., 2009)

Nous avons vu dans la section 3.1.1, que Garcia-Palacios et al. (2013) avaient mis en évidence que le climat affectait la qualité de la litière par le biais du ratio C:N mais également par un effet sur LMA (Figure 1.4). En effet, la masse surfacique répond à de nombreux paramètres physico-chimiques du biotope. Le rayonnement solaire reçu par la feuille explique à lui seul 40 à 60 % de la variation du LMA observable entre individus de la même espèce (Poorter & De Jong, 1999; Wright et al., 2004). Plus précisément, la valeur de ce paramètre sera d'autant plus forte que la quantité totale de rayonnement reçue par la feuille par jour sera importante (Niinemets et al., 2004). Ainsi, les feuilles de lumière, directement exposées au soleil, auront une masse surfacique plus grande que celle des feuilles d'ombre situées plus bas dans la canopée et donc recevant moins de rayonnement (Figure 1.6) (Niinemets et al., 2007). La quantité d'eau disponible dans le sol a également un impact sur la masse surfacique. En effet, une plante carencée en eau possède des cellules foliaires plus compactes, ce qui se traduit par une densité plus grande et par conséquent une masse surfacique plus élevée (Shields, 1950). Cela se traduit également par une résistance physique des feuilles plus grande. Enfin, la masse surfacique répond également à la température atmosphérique. Lorsque les végétaux se développent à de faibles températures, leur densité cellulaire au sein des feuilles est plus importante. Cela se traduit également par une masse surfacique plus grande (Atkin et al., 2006). Du fait que la masse surfacique soit intégratrice de nombreux paramètres du biotope, celle-ci est couramment utilisée comme trait écologique. C'est-à-dire qu'il s'agit d'un paramètre quantifiable délivrant des informations concernant les préférences de milieu de l'individu. Par exemple, associé à la mesure de la teneur en matière sèche des feuilles, ce paramètre permet d'identifier la stratégie écologique que suit le végétal (Hodgson et al., 1999; Caccianiga et al., 2006). Par ailleurs, la masse surfacique est également utilisable comme outil de diagnostic de l'état de perturbation d'un écosystème. Il a été montré qu'à espèce identique,

un individu se développant dans un milieu perturbé aura une masse surfacique plus faible que celle d'un individu d'un milieu non-perturbé (Louault et al., 2005).

L'ensemble de la section 3.1 a permis de mettre en évidence que la qualité de la litière, qui définit la décomposabilité de celle-ci, dépend de nombreux paramètres physico-chimiques tels que les teneurs élémentaires, les teneurs en composés phénoliques et le LMA. Par ailleurs, chacun de ces paramètres va dépendre des conditions physico-chimiques du biotope. Un effet de la pollution du sol sur ces paramètres de qualité aura donc des conséquences sur la décomposabilité de la litière. Décrire les effets des polluants du sol sur les végétaux et les paramètres de la qualité de leur litière sera justement l'objectif des sections suivantes.

3.2. Devenir des métaux dans les végétaux

Dans cette section, du fait que la toxicité concerne les végétaux, nous parlerons de phytotoxicité. Trois étapes vont impacter la phytotoxicité des métaux : l'absorption de ces métaux par les racines, le transport dans les parties aériennes et l'éventuel stockage sous forme non toxique (Gendre et al., 2006).

3.2.1. Absorption et transport des métaux dans la plante

L'absorption racinaire des ETM suit deux voies : une diffusion passive à travers l'apoplasme ou un passage dans le symplasme qui peut être accompagné d'un transport actif (Yang et al., 2005) (Figure 1.7). Après absorption, les métaux sont ensuite acheminés vers l'endoderme et cela toujours via ces 2 voies (Eapen & D'Souza, 2005). Sous contrainte des cadres de Caspary des cellules de l'endoderme des dicotylédones (Figure 1.7), un passage par le symplasme est alors obligatoire, puis les deux voies sont de nouveau possibles une fois passée la barrière de l'endoderme (Figure 1.7).

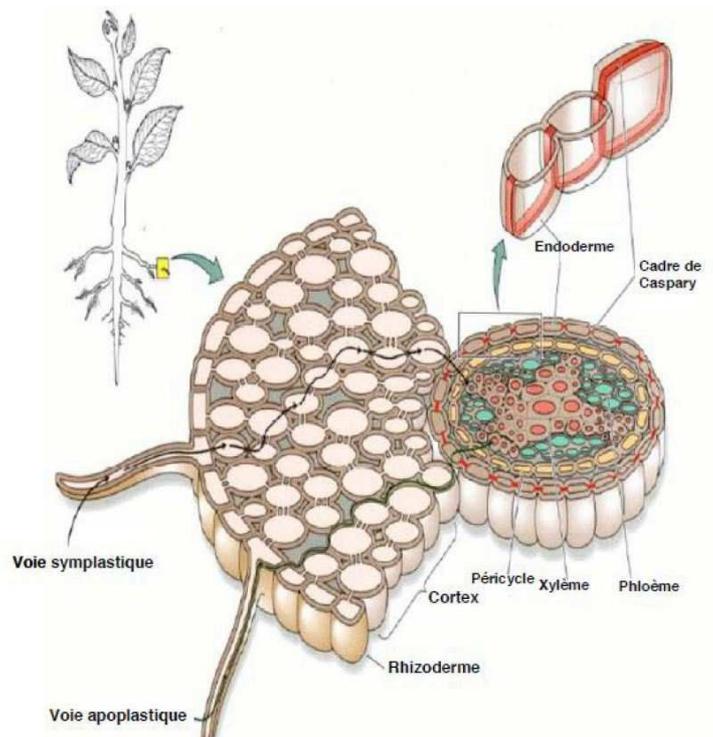


Figure 1.7 Transport radial dans la racine. Le transport des éléments au niveau des racines peut se faire par voie apoplastique (passage entre les cellules) ou par voie symplastique (passage dans les cellules).

D'après (Taiz & Zeiger, 2006).

Une fois dans le xylème, les métaux sont transportés par la sève brute, elle-même entraînée par appel foliaire lors de la transpiration (Eapen & D'Souza, 2005). Les transporteurs impliqués dans l'absorption et le transport des métaux sont initialement présents pour favoriser l'acquisition des métaux essentiels mais sont également capables de transporter certains métaux non-essentiels (Tableau 1.6).

Tableau 1.6 Rôle présumé des 4 groupes de transporteurs chez les végétaux et les métaux concernés.

Diversité des transporteurs de métaux des végétaux		
	ETM transportés	Rôles présumés
CPx-type ATPase	Cu, Zn, Cd et Pb	passage membrane cellulaire, exportation dans la vacuole
Nramp	Mn, Cd et métaux divalents	passage membrane cellulaire, exportation dans la vacuole
famille des CDF	Zn, Co et Cd	passage hors de la cellule, exportation dans la vacuole
famille des ZIP	Cd, Zn, Mn	exportation dans la vacuole

Quatre catégories de transporteurs des métaux dans les plantes ont été identifiées à ce jour : les CPx-type ATPase la famille des Nramp (natural resistance associated macrophage proteins), la famille des CDF (cation diffusor facilitators) et les ZIP (zinc iron permease) (Williams et al., 2000; Yang et al., 2005). Les CPx-type ATPase sont impliqués dans le transport du Cu, Zn, Cd et Pb et permettent le passage de ces métaux aux travers de la membrane cellulaire ou du tonoplaste de la vacuole, l'appareil de Golgi ou encore le réticulum endoplasmique (Williams et al., 2000). Les Nramp semblent avoir le même rôle que les CPx et ont été localisées dans les racines et les feuilles d'*Arabidopsis thaliana*. Les CDF, quant à eux, sont impliqués dans les flux de métaux hors des cellules ou en direction des vacuoles (Mäser et al., 2001). Enfin, les ZIP permettent le passage des métaux vers la vacuole (Guerinot, 2000). Les connaissances concernant l'ensemble des rôles joués par ces transporteurs ainsi que leur régulation et leur localisation chez les végétaux restent à ce jour peu documentées et sont souvent issues de travaux réalisés sur les bactéries et les champignons (Williams et al., 2000). Les transporteurs alors identifiés sont recherchés et souvent retrouvés chez les végétaux. Quoi qu'il en soit, il est clair que les transporteurs de métaux jouent un rôle central dans la gestion des métaux par les plantes. L'endoderme, qui oblige les flux des métaux par le symplasma, représente un obstacle majeur dans le transfert

des métaux vers les parties aériennes. Certains métaux tels que le Pb, le Cu et le Zn, ne peuvent pas passer cette barrière et sont donc retrouvés, au sein des végétaux, majoritairement dans les racines (Weis & Weis, 2004). Toutefois, malgré cette barrière, le Cu et le Zn, qui sont des métaux essentiels, sont retrouvés également dans les parties aériennes. C'est ce constat qui a suggéré l'existence de transporteurs spécifiques à certains métaux (ici permettant le passage du Zn et Cu mais pas du Pb) permettant le passage dans le symplasme des cellules de l'endoderme. La présence de ces transporteurs définit un premier système de résistance des végétaux aux ETM, dont la description sera le sujet de la section suivante.

3.2.2. *Flux et séquestration : résistance des plantes aux ETM*

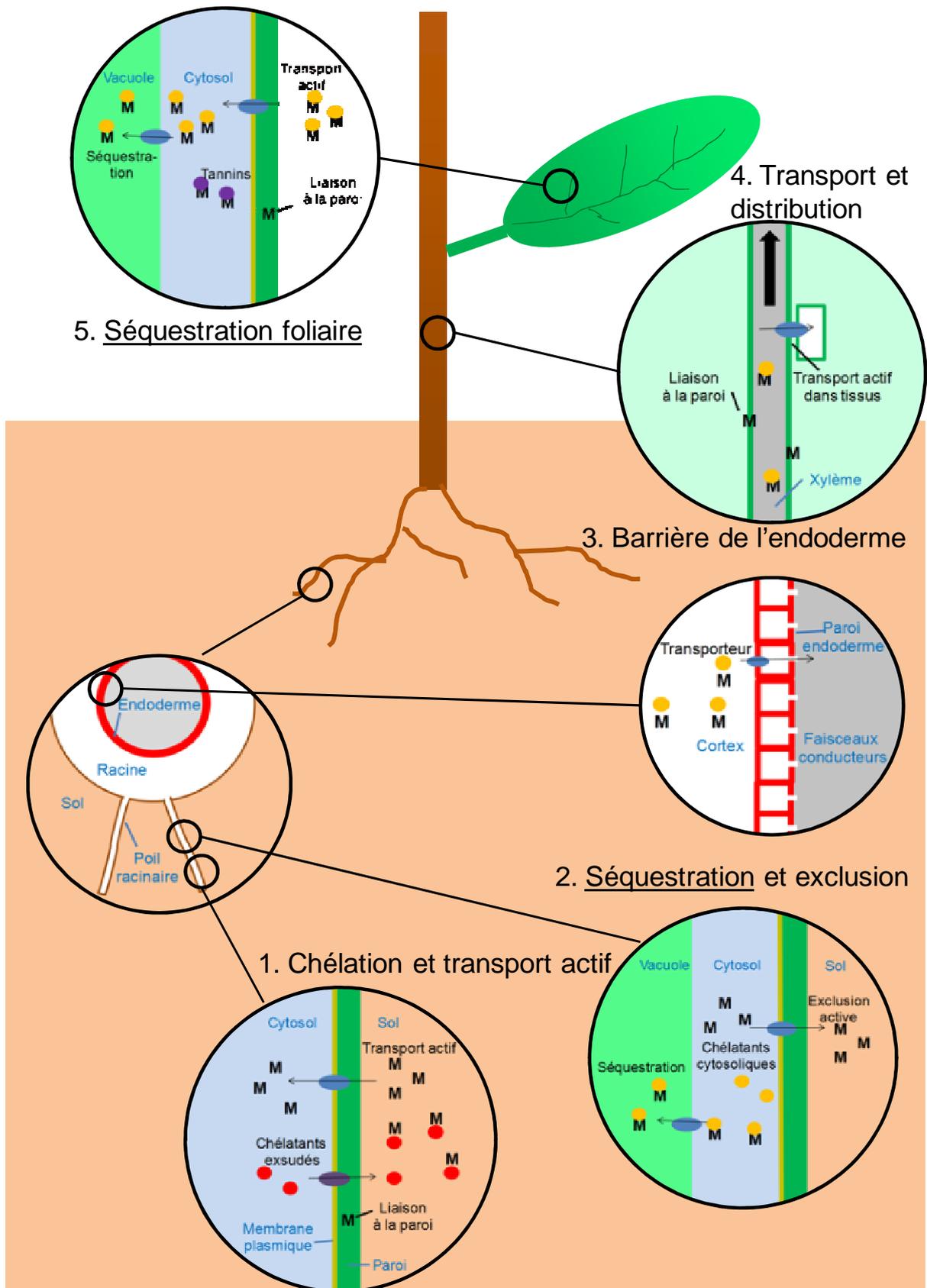


Figure 1.8 Potentiels principaux mécanismes de résistance des végétaux aux ETM. Les légendes soulignées correspondent aux mécanismes propres à la tolérance parmi l'ensemble des mécanismes de

résistance. 1. Des transporteurs partiellement sélectifs permettent l'entrée active des métaux essentiels et certains non essentiels. Les plantes peuvent exsuder des chélatants (ronds rouges) pour diminuer les métaux (M) disponibles. 2. Pour diminuer la quantité de métaux dans les racines, les ETM seraient exclus activement (transporteurs : ovales bleus) dans le sol et également chélatés (chélatants cytosoliques : ronds jaunes) et concentrés dans les vacuoles. 3. Les ETM non séquestrés sont dirigés, sous forme chélatée, en direction du xylème. La paroi de l'endoderme oblige un transport par le symplasma. La nature des transporteurs permet le passage ou non des métaux dans le xylème. 4. Les métaux suivent le flux d'eau en direction des parties aériennes. La présence de transporteurs va permettre la distribution des ETM dans les différents organes. 5. Au sein des feuilles, les métaux sont séquestrés dans les vacuoles, liés à la paroi et/ou associés aux tanins. Adapté de (Lambers et al., 2008).

Nous allons décrire ici les principaux mécanismes de résistance aux ETM mis en place par les végétaux (Figure 1.8). Ces mécanismes peuvent être séparés en deux catégories : 1) l'exclusion ou la limitation de l'entrée des polluants et, 2) d'autre part les processus de tolérance. Cette seconde catégorie rassemble l'ensemble des mécanismes qui permettent de limiter les effets délétères du polluant malgré sa présence au sein de l'organisme.

Afin de diminuer la quantité d'ETM pouvant être absorbée par les racines, les végétaux peuvent exsuder, par voie racinaire, des molécules chélatant les métaux et les rendant indisponibles à l'absorption racinaire (1.8.1). L'histidine et le citrate font partie de ces chélatants impliqués notamment dans la séquestration du cuivre et de l'aluminium (Nian et al., 2002).

La seconde stratégie utilisée pour diminuer la quantité d'ETM dans la plante est de diminuer les flux de métaux entrants et d'augmenter les flux de métaux sortants (1.8.1 et 1.8.2). Pour ce faire, des transporteurs protéiques non sélectifs par lesquels passent les polluants peuvent être absents des racines. Chez les angiospermes, la voie d'entrée principale de l'As dans les plantes est le système de transport du phosphore qui est activé en cas de carence en cet

élément. Il a été observé pour *Holcus lanatus* L. une absence de ce transporteur dans les racines, limitant ainsi l'absorption de l'arsenic (Meharg & Macnair, 1992). La conséquence de ce mécanisme de résistance est une plus faible absorption de phosphore par la plante du fait de l'absence du transporteur permettant d'augmenter son entrée. L'existence d'un transport actif des ETM hors de l'organisme a été mis en évidence pour les bactéries, les champignons et les végétaux. Toutefois, pour ces derniers, les transporteurs impliqués dans ce mécanisme d'exclusion n'ont pas encore été mis en évidence (Lambers et al., 2008).

Malgré les mécanismes précédemment décrits, les ETM peuvent s'accumuler dans les végétaux et induire des effets néfastes. Les teneurs dans les végétaux peuvent atteindre des valeurs extrêmes pouvant dépasser des valeurs de 1000 mg de métaux kg⁻¹ de biomasse sèche. On parle alors de plantes hyperaccumulatrices (Brooks et al., 1977). Afin de pouvoir survivre à ces teneurs extrêmes, des mécanismes de tolérance sont mis en place par les végétaux (Figures 1.8.2 et 1.8.5). Afin de diminuer leurs effets, les métaux peuvent être complexés par des agents chélatants comme l'acide citrique ou malique (Ma et al., 2001; Yang et al., 2005; Donascimento et al., 2006) mais également l'histidine (Singer et al., 2007; Richau et al., 2009) et la nicotiamine (Verbruggen et al., 2009) (Figure 1.8.2). Les tanins sont aussi connus pour leur rôle de chélateurs des ions métalliques (McDonald et al., 1996; Hagerman et al., 1998). En plus d'être complexés en formes moins néfastes, les métaux peuvent également être compartimentés dans des structures cellulaires résistantes aux effets délétères. Par exemple, dès leur pénétration dans le végétal, les métaux peuvent être adsorbés sur la paroi des cellules racinaires (Lambers et al., 2008) (Figures 1.8.1, 1.8.4 et 1.8.5). Par ailleurs, les transporteurs précédemment décrits (Tableau 1.6) peuvent être impliqués dans le transfert des métaux dans la vacuole (Eapen & D'Souza, 2005; Yang et al., 2005) (Figures 1.8.2 et 1.8.5). Dans ces structures cellulaires, le pouvoir phytotoxique des polluants est fortement amoindri, et ce d'autant plus si le polluant est déjà complexé. Les cellules concernées par ce transfert peuvent

être situées dans toute la plante, des racines aux feuilles et aux fruits. C'est le type de transporteurs et leur localité dans les végétaux qui vont définir l'organe dans lequel vont s'accumuler les ETM au sein des végétaux. Notamment, nous avons vu que du fait de l'absence de transporteur pour le passage du Pb au niveau de l'endoderme, ce métal s'accumule dans les racines. La localisation des métaux au sein des végétaux va donc dépendre du métal et de l'espèce végétale concernée.

3.2.3. Effets des ETM sur les végétaux

Lorsque l'ensemble des mécanismes de résistance précédemment décrits que peuvent utiliser les végétaux n'est pas efficace, les ETM induisent de nombreux effets néfastes sur les végétaux. Les racines étant directement en contact avec les polluants, ce sont les premières à subir les effets délétères, avec notamment une diminution de leur élongation (Lambers et al., 2008). Passée la barrière de l'endoderme, il peut s'en suivre également une diminution de la croissance des parties aériennes et de l'activité photosynthétique, ainsi que des dommages oxydatifs (Durand et al., 2010; Gallego et al., 2012). Du fait du remplacement des cations activateurs de certaines enzymes par les ETM, de nombreuses activités enzymatiques sont diminuées. Par exemple, dans le cas de la photosynthèse, on observe un remplacement par le plomb du magnésium de la Rubisco, nécessaire à son fonctionnement (Clijster et Van Assche, 1985).

L'ensemble de la section 3.2 nous a permis de mettre en évidence que les ETM induisaient de profondes modifications des propriétés physico-chimiques des végétaux et plus particulièrement des feuilles, du fait à la fois de leurs effets délétères mais également du fait de la mise en place de mécanismes de défense. Nous pouvons supposer que ces effets puissent se répercuter sur les paramètres de qualité des feuilles et des litières qu'elles formeront et ainsi affecter la décomposabilité des litières. Cela suggère donc une première voie d'effet

potentielle des polluants du sol sur les processus de la décomposition de la litière, via une modification de la qualité de la litière.

4. Effets de la pollution sur les acteurs de la décomposition

Nous avons vu (section 2.1) que les processus de la décomposition résultaient de l'action combinée des détritivores et des microorganismes décomposeurs, deux groupes fonctionnels dont les rôles, loin d'être indépendants, sont étroitement liés (section 2.2).

4.1. Physiologie des détritivores

4.1.1. *Effets néfastes des polluants*

La pollution des sols a deux voies d'actions sur les détritivores, par contact direct ou par voie trophique. Selon son écologie, un organisme ne sera pas exposé de la même manière. Par exemple, les lombrics vivant dans le sol, en particulier les endogés et les anéciques (Bouché, 1977; Lee, 1985), seront exposés aux ETM par contact et par voie trophique du fait que la litière entre dans l'alimentation de bon nombre d'entre eux. Dans le cas des diplopodes, ces derniers vivant directement dans la litière dont ils se nourrissent, seront principalement exposés aux ETM par voie trophique. Du fait de l'accumulation des polluants dans les végétaux, les détritivores consommant ces litières sont donc exposés à des teneurs plus grandes que celles se retrouvant dans le sol.

Parmi l'ensemble des effets délétères des polluants du sol sur la physiologie et le développement des détritivores, nous pouvons tout d'abord citer une diminution de la croissance des juvéniles de diplopodes exposés aux ETM par voie trophique (Hopkin et al., 1985; Köhler et al., 1995). Les vers de terre sont également négativement affectés par les polluants, avec une diminution de leur croissance, de leur survie et de leur taux de

reproduction, que ce soit dû à une pollution par voie trophique ou par contact (Ma, 1988; Spurgeon & Hopkin, 1999; Spurgeon et al., 2000). Par ailleurs, il a été observé pour les collemboles, autres décomposeurs, une forte diminution du taux de reproduction de nombreuses espèces en présence d'une pollution métallique (Visioli et al., 2013). Enfin, il a également été observé, pour des isopodes, des cycles de vie plus courts dans les systèmes pollués (Donker et al., 1993). Ainsi, l'accumulation des polluants dans les organismes est moindre avant la ponte, diminuant de ce fait les effets sur les juvéniles.

Ces exemples sont évidemment loin d'être exhaustifs dans la description de ces effets du fait de la variabilité de réponse en fonction de l'espèce cible et de la pollution (type de polluant, quantité biodisponible, voie trophique ou contact).

4.1.2. Systemes de resistance

Afin de lutter contre la toxicité des polluants, les invertébrés du sol adoptent, tout comme les végétaux, des mécanismes de résistance basés sur l'excrétion des polluants ou sur leur séquestration ((Posthuma & Van Straalen, 1993). Ainsi, au sein des organismes et notamment chez les détritivores, les polluants se retrouvent en fortes concentrations dans les tissus du système digestif. Par exemple, pour les diplopodes, les teneurs en cadmium dans ces tissus atteignent 60 à 68% de la teneur totale de l'organisme et celle en plomb 47 à 64 % (Hopkin et al., 1985; Köhler et al., 1995). Au sein des cellules du système digestif, les métaux se trouvent séquestrés dans des granules de métal qui diminuent leur toxicité (Köhler, 2002). Dans le cas des collemboles, un mécanisme similaire a été observé, avec une accumulation des métaux sous forme de granules dans des cellules, cellules qui sont ensuite en partie éliminées lors de la mue de l'animal (Joosse & Buker, 1979). Les systèmes visant à expulser les polluants hors de l'organisme ne sont pas rares parmi la faune. Les vers de terre aussi sont capables d'excréter les métaux (Spurgeon & Hopkin, 1999). Par ailleurs, une modification de la

consommation de la litière a aussi été observée quand celle-ci était produite sur sol pollué. Dans certains cas, la consommation diminue, ce qui se traduit par une diminution de la quantité de métal assimilée mais également par une diminution de la biomasse des individus (Hopkin et al., 1985). Cette diminution de la consommation a également été observée pour les vers de terre se développant dans un sol pollué en cuivre (Ma, 1984). Toutefois, la diminution de la consommation ne fait pas la règle. Par exemple, une augmentation de celle-ci a été observée pour le vers de terre *Lumbricus rubellus* (Hobbelen et al., 2006), les isopodes (Van Straalen & Verweij, 1991) et les diplopodes (da Silva Souza et al., 2014). Cette augmentation de la consommation peut s'accompagner, comme dans le cas des diplopodes par une diminution de l'assimilation (da Silva Souza et al., 2014). Cette modification de la consommation peut s'expliquer par une modification de la qualité de la litière produite par les végétaux se développant sur sol pollué. En effet, l'appétence de la litière peut avoir un effet plus important sur la consommation par les organismes du sol que la toxicité des polluants présents dans cette litière (Johnson & Hale, 2004).

4.2. Effets des polluants sur la structure des communautés des acteurs

Du fait des effets délétères des polluants et des espèces de détritivores présentant des résistances à la pollution variables, les communautés de détritivores vont être impactées. Ainsi, certaines espèces de vers de terre particulièrement sensibles à la pollution organique et inorganique peuvent être totalement absentes des sols pollués (Spurgeon & Hopkin, 1996). Cela se traduit par une diminution de la diversité spécifique en vers de terre dans les sols pollués. Une diminution de cette diversité parmi les diplopodes a également été observée en présence d'ETM (Hopkin et al., 1985). Cet effet est observé aussi bien lors d'une pollution par contact que par voie trophique (Read & Martin, 1990). Les nématodes voient également leur structure de communauté perturbée par la pollution métallique avec une diminution de la

diversité spécifique (Sánchez-Moreno & Navas, 2007). En plus des effets sur la diversité, une diminution de l'abondance de tout ou partie des communautés est également observée dans les sols pollués. Par exemple, dans le cas d'une contamination aux HAP une diminution de l'abondance en collemboles a pu être observée (Best et al., 1978).

Les communautés de microorganismes montrent également une réponse à la pollution des sols. Les communautés mises en place dans les sols pollués sont très différentes de celles présentes dans les sols non pollués, que ce soit du point de vue de l'abondance totale ou de la diversité spécifique (Giller et al., 2009). Il découle de ces perturbations de communautés de microorganismes une modification des activités enzymatiques réalisées par les microorganismes (Baath, 1989; Brandt et al., 2006). La diversité spécifique tout comme l'abondance totale en microorganismes peuvent aussi bien être négativement que positivement impactées par la pollution. Cette réaction dépend à la fois de la nature des polluants et de leur abondance. Quoi qu'il en soit, une absence de perturbation de ces communautés est rarement observée.

4.3. Conséquences pour la décomposition de la litière

Il est reconnu depuis longtemps que la structure des communautés de microorganismes influence la réalisation de nombreuses fonctions écosystémiques dont la décomposition de la litière (Hendrix et al., 1986; Schimel & Gulledge, 1998; Reed & Martiny, 2007). Toutefois, jusqu'à récemment l'effet du climat était considéré comme bien supérieur à l'effet de la structure des communautés de microorganismes, cette dernière étant considérée comme un effet indirect du climat. Cette vision était basée sur le fait que les microorganismes, ayant un cycle de vie très court, voient leurs communautés s'adapter très rapidement à leur milieu avec un haut degré de redondance fonctionnelle. C'est-à-dire que, parmi l'ensemble des microorganismes présents dans la communauté, le nombre d'espèces capables d'accomplir

une fonction particulière est très important (Wall & Virginia, 1999). Les travaux de Strickland et al. (2009) ont récemment montrés qu'à conditions climatiques égales la structure des communautés microbiennes pouvait suffisamment se différencier entre site pour avoir une influence différente sur la décomposition de la litière. Ces résultats soulignent que d'autres paramètres du sol peuvent induire une modification de la structure des communautés de microorganismes et par conséquence affecter la décomposition.

Concernant la communauté de détritivores, son effet sur la décomposition semble principalement lié à la présence d'espèces clefs ayant des fonctions spécifiques (Cragg & Bardgett, 2001). Notamment, l'absence de groupe fonctionnel a un effet extrêmement négatif sur la décomposition. Ceci a notamment été observé avec un taux de décomposition plus bas lors de l'absence de vers de terre (Vos et al., 2011).

L'ensemble de la section 4 à permis de montrer que les acteurs de la décomposition (détritivores et microorganismes décomposeurs) pouvaient voir leur physiologie (détritivore) et leur structure de communautés être fortement impactées par la pollution des sols. Or c'est la structure de ces communautés qui va définir la capacité des acteurs de la décomposition à pouvoir réaliser cette fonction écosystémiques. Nous pouvons donc émettre l'hypothèse, qu'en plus de l'effet de la pollution sur la décomposition proposé en section 4.2, la pollution des sols peu également induire un effet délétère sur la décomposition de la litière via la perturbation des communautés de détritivores et de microorganismes.

5. Objectifs de la thèse

Parmi l'ensemble des facteurs de stress pouvant influencer le fonctionnement des écosystèmes, les polluants du sol, avec plus de 2600 sites pollués suivis sur le territoire français (Base de données Basol, 2015), présentent un intérêt majeur. Nous avons pu voir dans cette introduction que la compréhension de l'effet de ces polluants à l'échelle de l'écosystème semble d'une grande complexité et qu'évaluer l'effet des polluants sur l'état de santé des écosystèmes du sol semblait indissociable de la mesure d'une ou plusieurs fonctions écosystémiques.

Parmi l'ensemble des fonctions écosystémiques mesurables, la décomposition de la litière présente un intérêt majeur. Tout d'abord, cette fonction est particulièrement importante car elle permet la réalisation des cycles biogéochimiques du carbone et des nutriments (Moore et al., 2004). Par ailleurs, cette fonction est particulièrement intégratrice de l'état de l'ensemble de l'écosystème car elle dépend à la fois des végétaux (qualité de la litière), de la faune du sol (détritivores), des microorganismes (décomposeurs) et du climat (Aerts, 1997). C'est pour ces raisons que, dans le but d'évaluer le fonctionnement des écosystèmes des sols pollués, nous avons choisi de nous focaliser sur la mesure du taux de décomposition de la litière.

Afin d'évaluer pleinement l'effet de la pollution des sols sur la décomposition de la litière, nous avons émis plusieurs hypothèses exposées dans la Figure 1.9. L'hypothèse principale étudiée au cours de cette thèse a été de considérer que la pollution du sol pouvait avoir deux voies principales d'effet sur les acteurs de la décomposition (détritivores et microorganismes).

(1) Tout d'abord, un effet direct négatif qui aurait lieu directement par contact ou ingestion des polluants par les acteurs. Nous ferons référence à cette première voie d'effet des polluants sous le nom d'effet direct. (2) Concernant la deuxième voie d'action, nous avons supposé que la pollution, en entraînant des modifications de la physiologie des plantes, pouvait modifier les paramètres physico-chimiques de la litière et ainsi impacter de façon indirecte les acteurs

de la décomposition et à fortiori le processus de décomposition de la litière. A cela s'ajoute l'effet des éventuels polluants présents dans les litières produites sur sols pollués qui eux aussi pourraient avoir des effets délétères sur les acteurs de la décomposition via les plantes productrices de litière. Nous faisons donc l'hypothèse que cet effet indirect de la pollution serait négatif sur les acteurs et la décomposition et donc sur l'ensemble du processus de décomposition des litières.

L'élaboration de ces deux hypothèses et plus particulièrement celle concernant l'effet direct négatif des polluants sur les acteurs de la décomposition s'est basée sur les connaissances exposées dans la section 4. La pollution du sol peut induire des modifications de la structure des communautés des acteurs de la décomposition, structure dont dépendent les processus de la décomposition. C'est d'ailleurs cet effet direct qui a jusque-là été avancé dans les travaux visant à l'étude de cette fonction en milieu pollué (Berg and McClaugherty, 2003; McEnroe and Helmisaari, 2001). L'hypothèse d'un effet indirect négatif, quant à elle, vient du constat que nous avons fait en section 3.2. Les polluants du sol peuvent induire de profondes modifications des propriétés physico-chimiques des litières produites par les plantes du fait des perturbations physiologiques et de croissance subis par les plantes. Nous avons donc supposé que ces effets pouvaient se répercuter sur la qualité de la litière, définissant sa décomposabilité. Pour étayer notre hypothèse, certains travaux ont déjà suggéré un effet de la pollution sur les paramètres de la qualité de la litière. Notamment, il a été observé pour les végétaux se développant sur sol pollué une augmentation du LMA (Ivanova et al., 2011), une diminution du ratio C:N de la litière (McEnroe and Helmisaari, 2001) et également une augmentation de la teneur en lignine des feuilles (Kieffer et al., 2008 ; Elobeid et al., 2012). Par ailleurs, les tanins étant impliqués dans les mécanismes de tolérance aux métaux (McDonald et al., 1996; Hagerman et al., 1998), une modification de leurs teneurs dans les litières issues de milieux pollués peut également être supposée. Nous avons également vu que

du fait de la nature des ETM et des mécanismes de résistance des végétaux, les ETM pouvaient se retrouver en quantités extrêmement variables dans les feuilles. Ces ETM peuvent ensuite se retrouver dans les litières et affecter les acteurs de la décomposition par voie trophique, contribuant ainsi à la voie d'effet indirect négatif de la pollution sur les acteurs et la décomposition.

Afin d'explorer ces différentes hypothèses, nous avons formulé trois questions scientifiques auxquelles les différents chapitres de ce manuscrit tenteront de répondre.

- 1) *Existe-il un effet direct et/ou indirect négatif de la pollution du sol sur la décomposition de la litière ?* Afin de répondre à cette première question, les deux voies d'effets (direct et indirect) de la pollution seront étudiées sur une friche industrielle modèle. Pour cela la décomposition de la litière sera étudiée sur cette friche ainsi que sur trois sites non-pollués en comparant le taux de décomposition i) entre la litière provenant du site pollué et celles provenant des sites non-pollués (effet indirect) et ii) selon le site de décomposition, à savoir la friche ou les sites non-pollués (effet direct). Cette étude constituera le Chapitre I, qui fait l'objet d'un article publié dans STOTEN (mettre le nom du journal en toutes lettres)
- 2) *Peut-on généraliser les observations faites sur l'effet direct à un ensemble de sites pollués ?* Suite aux travaux exposés dans le chapitre I, nous avons cherché à généraliser les observations faites sur l'effet direct en menant une expérimentation à l'échelle nationale, basée sur l'étude de 8 couples de sites pollués et non-pollués et constituera le chapitre II.
- 3) *Y a-t-il un effet indirect négatif de la pollution sur la qualité de la litière ?* Afin de pouvoir répondre pleinement à cette dernière question, deux objectifs distincts ont été formulés, objectifs traités séparément dans les deux derniers chapitres (III et IV). Le

chapitre III vise à déterminer quelle stratégie de gestion des métaux dans les litières est suivie par les arbres. En effet nous pouvons supposer que lors de la sénescence les arbres peuvent soit réassimiler les polluants présents dans les feuilles comme d'autres éléments (azote, phosphore) soit les maintenir dans les litières. La présence des polluants dans les litières pourrait affecter les acteurs de la décomposition et de ce fait induire un effet indirect négatif de la pollution sur les acteurs et la décomposition. Le chapitre IV, basé sur une expérimentation en milieu contrôlé, visera quant à lui à évaluer l'effet de la pollution sur les paramètres de la qualité des feuilles et des litières en se prévenant de l'effet des autres paramètres physico-chimiques des sols propres aux friches industrielles étudiées dans les chapitres précédents. Aux cotés des polluants éventuellement présents dans les litières, les modifications de paramètres de qualités pourrait également induire un effet indirect de la pollution sur la décomposition.

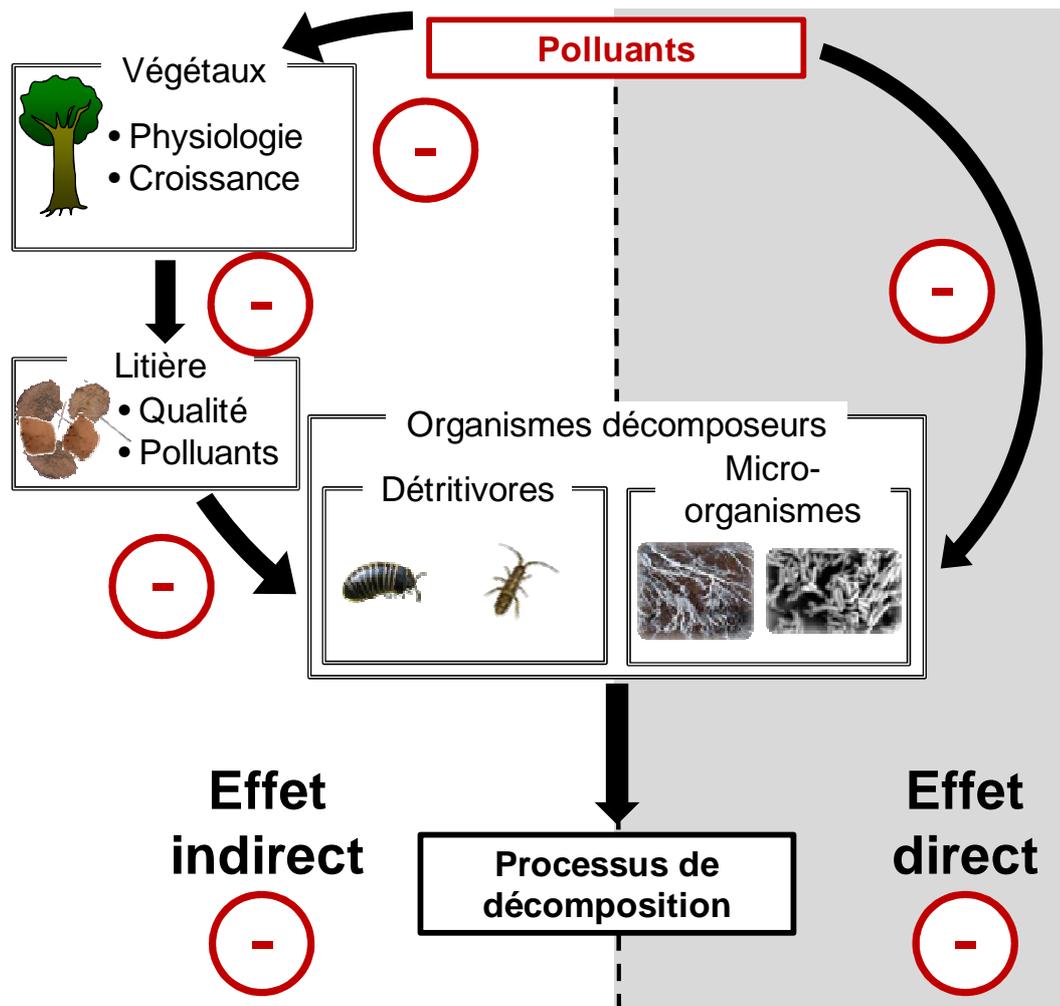


Figure 1.9 Schéma représentant les principales hypothèses de ce travail : deux voies d'action de la pollution du sol sur le processus de décomposition de la litière. En blanc, la voie indirecte. Du fait des effets délétères de la pollution sur les végétaux et de la mise en place de mécanismes de défense, la qualité de la litière produite est négativement ou positivement impactée selon la pollution et l'espèce végétale concernée. Cette qualité de la litière combinée à la présence de polluants dans la litière va avoir des effets délétères sur les acteurs de la décomposition par voie trophique. En gris, l'effet direct.

La structure des communautés des acteurs de la décomposition, dont dépendent les processus de décomposition, est modifiée (abondance, diversité spécifique) sous l'influence de la pollution des sols, par contact ou voie trophique.

Chapitre I

*Effets directs et indirects de la pollution des
sols sur la décomposition de la litière dans
une friche industrielle*



Préambule

Nous avons vu que la pollution des sols pouvait induire des effets délétères sur l'ensemble des communautés biologiques. De ce fait, nous avons émis l'hypothèse centrale que la pollution des sols pouvait avoir des effets délétères sur la décomposition par deux voies d'action. (1) La première voie, directe, est constituée de l'ensemble des effets délétères que provoquent les polluants sur les acteurs de la décomposition (faune : détritivores et microorganismes décomposeurs : bactéries et champignons), dont dépend la bonne réalisation de cette fonction. (2) Concernant la deuxième voie d'action, nous avons supposé que la pollution, en entraînant des modifications de la physiologie des plantes, pouvait modifier les paramètres physico-chimiques de la litière et ainsi impacter de façon indirecte la décomposition des litières. Pour cela, nous avons avancé l'implication à la fois des effets délétères mais également des mécanismes de défense mis en place par les végétaux.

L'objectif de ce chapitre a été d'étudier la contribution de ces deux voies d'action dans l'effet de la pollution sur les processus de la décomposition ainsi que leur interaction. Pour ce faire, nous avons comparé le taux de décomposition de la litière de *Populus tremula* produite sur une friche industrielle avec celui de trois sites non-pollués, ces litières étant mises à décomposer sur l'ensemble des quatre sites selon un plan expérimental croisé complet. Afin d'explorer la voie d'action indirecte, nous avons évalué la qualité de la litière des 4 sites. Par ailleurs, afin d'explorer la voie directe, nous avons étudié la structure des communautés de détritivores des quatre sites ainsi que la colonisation des litières par les champignons.

Article 1 Litter chemistry prevails over litter consumers in mediating effects of past steel industry activities on leaf litter decomposition

Publié dans *Science of the Total Environment* : décembre 2015

Pierre LUCISINE¹, Antoine LECERF², Michaël DANGER¹, Vincent FELTEN¹, Delphine ARAN¹, Apolline AUCLERC³, Elisabeth M. GROSS¹, Hermine HUOT³, Jean-Louis MOREL³, Serge MULLER¹, Johanne NAHMANI⁴, Florence MAUNOURY-DANGER^{1*}

¹Laboratoire interdisciplinaire des environnements continentaux, CNRS UMR 7360, Université de Lorraine, 8, rue du général Delestraint, 57070 Metz, France

²Laboratoire écologie fonctionnelle et environnement, CNRS UMR 5245, Université Toulouse III, 118, route de Narbonne, 31062 Toulouse, France

³Laboratoire Sols et Environnement, INRA UMR 1120, Université de Lorraine, 2, avenue de la Forêt de Haye, 54505, Vandœuvre-lès-Nancy, France

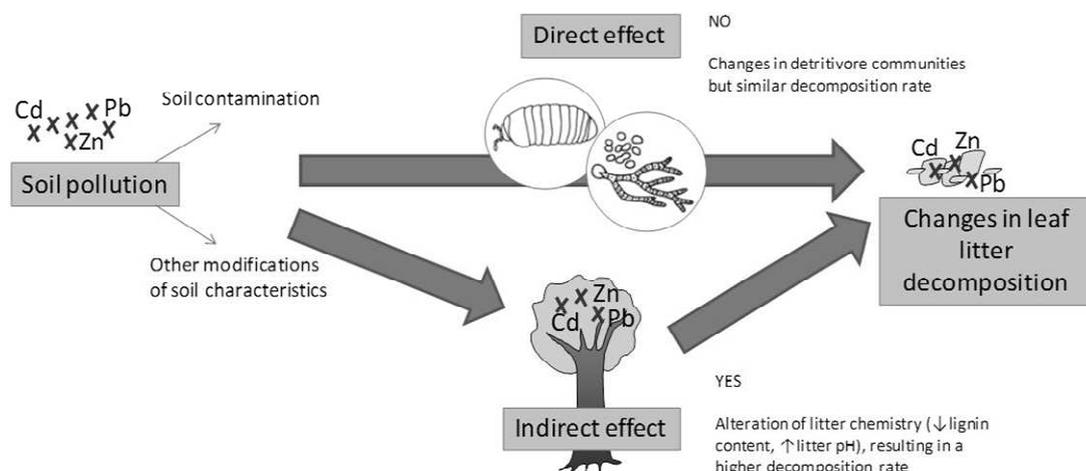
⁴ Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE), CNRS – Université de Montpellier – Université Paul Valéry Montpellier – EPHE, Montpellier Cedex 5, France

*Corresponding author : Florence Maunoury-Danger

Laboratoire interdisciplinaire des environnements continentaux, CNRS UMR 7360, Université de Lorraine 8, rue du général Delestraint, 57070 Metz, France

Phone : +33 387378622

Graphical abstract



Abstract

Soil pollution has adverse effects on the performance and life history traits of microorganisms, plants, and animals, yet evidence indicates that even the most polluted sites can support structurally-complex and dynamic ecosystems. The present study aims at determining whether and how leaf litter decomposition, one of the most important soil ecological processes, is affected in a highly trace-metal polluted site. We postulated that past steel mill activities resulting in soil pollution and associated changes in soil characteristics would influence the rate of litter decomposition through two non-exclusive pathways: altered litter chemistry and responses of decomposers to lethal and sub-lethal toxic stress. We carried out a litter-bag experiment using *Populus tremula* L. leaf litter collected at, and allowed to decompose in, a trace metal polluted site and in three unpolluted sites used as controls. We designed a fully-factorial transplant experimental design to assess effects of litter origin and exposure site on the rate of litter decomposition. We further determined initial litter chemistry, fungal biomass, mesofauna abundance in litter bags, and the soil macrofauna community. Irrespective of the site of litter exposure, litter originating from the polluted site had a two-fold faster decomposition than litter from the unpolluted sites. Litter chemistry, notably the lignin content, seemed most important in explaining the degradation rate of the leaf litter. Abundance of meso and macro-detritivores was higher at the polluted site than at the unpolluted sites. However, litter decomposition proceeded at similar rates in polluted and unpolluted sites. Our results show that trace metal pollution and associated soil and litter changes do not necessarily weaken consumer control on litter decomposition through lethal and sub-lethal toxic stress.

Key words

Trace metals, leaf litter decomposition, leaf characteristics, litter bags, soil biota communities, soil functioning

Highlights

We evaluated leaf litter decomposition on a techno-soil polluted by trace metals

Litter produced at the polluted site decomposed faster than unpolluted litter

Detritivores were found in higher abundances in the polluted site

Litter decomposition rate was similar in the polluted and unpolluted sites

Contrary to expectations metal stress does not systematically impact soil functioning

Introduction

Centuries of industrialization have left a massive legacy of soil pollution across Europe and North America. A majority of abandoned brownfields remains unmanaged and efforts to restore polluted soils have been hampered by a poor understanding of ecological patterns and processes in these ecosystems shaped by human activity. Among the multiple pollutants that can be found in these sites, trace metals, such as cadmium, zinc, lead, nickel, are known to affect most biological compartments. Large body of evidence demonstrates that trace metals can impair individual fitness, demographic traits, and community composition. Toxic stress experienced by plants growing on polluted soils generally result in reduced growth and photosynthesis rates (Durand et al., 2010), or oxidative damage (e.g., Gallego et al., 2012). Trace metals also affect the community structure and composition of keystone microbial decomposers (fungi and bacteria; Giller et al., 2009). Trace metals accumulate in plants and

soil microorganisms, which exacerbates metal exposure to higher trophic level consumers. For example, consumption of polluted litter by Diplopoda induces changes in their physiology (da Silva Souza et al., 2014). High contents of nickel, chrome and cobalt in soil also altered Collembola reproduction rate and consequently affected the structure of the whole soil community (Visioli et al., 2013).

Current understanding of environmental impacts of soil pollution is based primarily on studies of selected organisms, populations, or communities. Yet ecosystem-level impacts cannot be fully appreciated without direct measurement of key ecosystem functions. As most primary production is not consumed by herbivores, but turns into detritus, plant litter decomposition is critically important in driving carbon and nutrient biogeochemical cycles (Moore et al., 2004). Litter decomposition ensures the mineralization and transformation of organic matter (Wardle et al., 2004; Gessner et al., 2010). Coughtrey et al. (1979) found that soils polluted by multiple trace metals stored more plant litter than unpolluted soils, providing indirect evidence of impairment of the litter decomposition process. Similar conclusion was reached from two decomposition experiments (McEnroe & Helmisaari, 2001; Johnson & Hale, 2004). However, Van Nevel et al. (2014) found that the decomposition of aspen litter collected on a polluted site was not necessarily slower than the decomposition of aspen litter originating from unpolluted sites. Our study is, to our knowledge, the first to test the relative importance of a wide range of soil and plant leaf litter characteristics for leaf litter decomposition rate in relation to past steel-mill activities resulting in a high soil trace metal.

Litter decomposition is, already in unpolluted sites, driven by many biotic and abiotic parameters, and pollution may add a further abiotic constraint. Decomposition involves chemical processes such as oxidation of organic compounds and microorganism enzymatic activity (Aerts, 1997). Trace metal pollutants can chelate with organic compounds ion, and this process might differ depending on the oxidation of the compounds (Egli et al., 2010).

TME have also been shown to affect microorganism enzymatic activity (Van Beelen & Doelman, 1997)(van Beelen & Doelman, 1997). Fragmentation and digestive processes caused by leaf litter consumption of detritivorous invertebrates can contribute substantially to litter mass loss (Vos et al., 2011; Yang et al., 2012; Visioli et al., 2013; Handa et al., 2014). Leaf litter decomposition is modulated by soil characteristics, such as moisture, pH or aeration, and leaf litter chemistry (Coûteaux et al., 1995). In many polluted soils, these parameters are altered due to the nature of the materials they contain (blast furnace sludge, slag heap, ashes ...). Lignin is the most recalcitrant carbon form in leaf litter and, as such, its content is a good proxy for litter degradability (Wardle et al., 2004; Gessner et al., 2010). The content of nitrogen and phosphorus in leaf litter, but also other elements, can determine litter degradability because decomposer growth and enzyme production are often limited by the availability of mineral elements in soils (Conn & Dighton, 2000). Lastly, phenolic compounds are known to influence leaf litter palatability for detritivores and microbes (Grime et al., 1996; Driebe & Whitham, 2000; Hättenschwiler & Vitousek, 2000; Hättenschwiler et al., 2003).

Soil pollution has the potential to influence the rate of litter decomposition through two main, non-exclusive pathways (Figure 2.1). (1) Through effects on tree physiology, soil pollution may induce changes in leaf traits and ultimately litter chemistry, *i.e.* lignin, phenolic compounds and elemental contents (Loponen et al., 2001; Kieffer et al., 2008; Elobeid et al., 2012). This may lead to indirect effects of soil pollution on leaf litter decomposition rate. (2) Soil pollution may also directly affect decomposer and detritivorous communities through effects on individual performance and demographic rates (Haimi & Mätäsniemi, 2002; Visioli et al., 2013). Here and further on, for better readability, soil pollution designates both soil contamination (TME) and all other altered soil parameters in the techno-soil investigated (pH, moisture, structure, organic content,...).

To test the occurrence of both indirect and direct effects of soil pollution on leaf litter decomposition, we carried out a litter-bag experiment in polluted and unpolluted forested sites. We assessed effects of the site of litter exposure (soil characteristics) and site of litter origin (litter chemistry) on litter decomposition. Because soil pollution is expected to select the most adapted decomposer and detritivorous species to consume contaminated litter, we predicted that litter originating from polluted sites would decompose faster in its home field than in unpolluted sites. This hypothesis derives from the home-field advantage theory (Ayres et al., 2009; Gholz et al., 2000). A brownfield with a well establish plant community and three adjacent unpolluted sites, *i.e.* sites that had not directly been affected by past industrial activities, were selected and characterized for their plant and soil fauna communities. On each site, aspen (*Populus tremula*) leaf litter was collected and characterized for leaf litter chemistry parameters and trace metal contents. The decomposition of leaf litter from each origin was then quantified on each site.

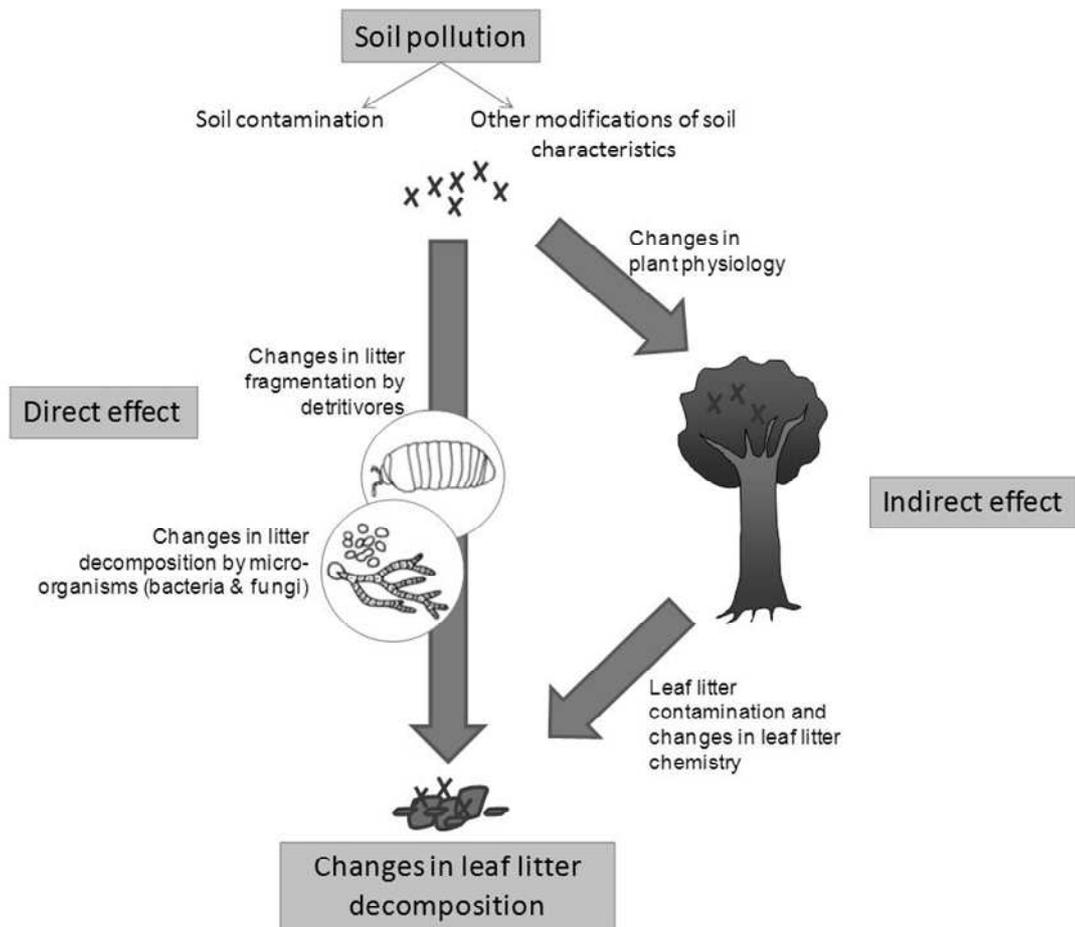


Figure 2.1 Conceptual model of how soil pollution may affect litter decomposition rate

Material and methods

Study sites

We studied a trace metal polluted brownfield in a former steel mill situated along the Moselle River in northeastern France (48° 46' 8.13" N, 6° 8' 4.11 E ", 200 m above sea level). The study site was formerly a 2.6 ha settling pond wherein blast furnace sludge had been dumped for almost one century. It had been entirely filled up with *ca.* 10-m thick deposits and the land has been left unmanaged since cessation of activity (early 1990s). Nowadays, the site is covered by a meso-hygrophilic deciduous forest dominated by *Populus tremula* L., *Quercus petraea* (MATT.) LIEBL., *Alnus glutinosa* (L.) GAERTN., *Betula alba* L. and *Fraxinus excelsior*

L.. The soil is characterized by a fine texture, a low bulk density, a strong vertical heterogeneity and high contents of trace metals, particularly cadmium, lead and zinc (on average $106 \mu\text{g g}^{-1}$, $21\ 100\mu\text{g g}^{-1}$ and $24\ 800 \mu\text{g g}^{-1}$, respectively (Huot et al., 2013). Despite its technogenic origin, this soil undergoes early pedogenetic evolution, such as evidenced by the formation of a 20-cm thick organic layer (Huot et al., 2013).

We compared this polluted site with three forested unpolluted sites along the Moselle River. These sites were named unpolluted site 1 to 3 (U1, U2, U3 respectively) based on their location on a North to South axis (Table 2.1). To take soil heterogeneity into account, in each of the four study sites, three independent plots (50 cm x 200 cm) separated by 20 m were considered. The overall rationale for choosing three unpolluted sites was that the polluted soil had a unique combination of physical and geochemical features, which was not found in a single natural soil. The unpolluted sites are unmanaged lands colonized by meso-hygrophilic deciduous forest of similar age and composition as that of the polluted site. They are located at short distances (6-31km) to the polluted site to limit differences in climatic factors. Both the polluted and unpolluted sites are situated at close (11-62 m) distance from the Moselle River, in the floodplain (Table 2.1).

Table 2.1 Site location and soil characteristics (mean value; n = 3)

Sites properties		Mean (SE) values by site			
		Polluted	Unpolluted 1	Unpolluted 2	Unpolluted 3
Coordinates	Latitude	48° 46' 8.13"N	49°00'51.8"	48°49'44.3"	48°45'21.3"
	Longitude	6° 8' 4.11"E	N 6°02'51.6"E	N 6°05'02.6"E	N 6°03'29.0"E
Mean distance to river (m)		62 (3)	11 (3)	51 (8)	15 (2)
<i>Soil</i>					
pH		7.8 (0.1)	6.9 (0.1)	7.6 (0)	7.7 (0.1)
CEC (cmol ⁺ · kg ⁻¹)		60.7 (3.7)	18.2 (0.6)	19.8 (0.8)	21 (0.3)
Carbonates (mg g ⁻¹)		90 (23)	5 (0.3)	6 (0)	56 (14)
Organic carbon (mg g ⁻¹)		146 (16)	29 (2)	33 (3)	33 (1)
Nitrogen (mg g ⁻¹)		9.3 (1.1)	2.8 (0.1)	2.8 (0.2)	3 (0.1)
Phosphorus (mg g ⁻¹)		3.1 (0.1)	0.8 (0)	1.1 (0.1)	0.8 (0.1)
Cadmium (µg g ⁻¹)		73 (8)	<1	<1	<1
Lead (µg g ⁻¹)		15,560 (2209)	17 (1)	66 (13)	35 (4)
Zinc (µg g ⁻¹)		19,540 (1915)	47 (2)	136 (22)	97 (10)
<i>Plant</i>					
Luminosity index		5.6 (0.2)	5.4 (0.3)	5.8 (0.2)	5.1 (0.2)
Moisture index		5.4 (0.3)	5.9 (0.3)	5.7 (0.3)	5.6 (0.2)
Acidity index		6.8 (0.3)	6.6 (0.3)	7.2 (0.2)	6.9 (0.1)
N nutrition index		5.9 (0.4)	5.8 (0.4)	6.3 (0.3)	6.6 (0.2)

Site characterization

6. Soil parameters

In May 2012, superficial soil (A horizon) samples were collected in the four corners of each of the three plots per site and were pooled by plot. In the laboratory, soil samples (n = 3) from each site were air-dried and sieved to remove coarse particles (>2 mm) prior to the determination of pH, Cation-Exchange Capacity (CEC), and soil content of carbonate, organic carbon (C), nitrogen (N), phosphorus (P), cadmium (Cd), lead (Pb) and zinc (Zn). The pH was measured in a 1:5 soil: water suspension. CEC was estimated by the cobaltihexamine method (Aran et al., 2008). The CaCO₃ content was estimated based on volumetric method by

measuring the CO₂ released after 4 M HCl treatment with the Scheibler device (NF ISO 10693, 1995). Organic C content was estimated from total C after correcting for carbonate content. Total C and N were quantified using a Carlo-Erba NA 2100 analyzer, and Cd, Zn and Pb (more abundant trace metals in the polluted soil) using ICP-OES (iCAP 6000 series, Thermoscientific). P in soil was extracted with 1N sodium hydroxide and 0.5M sodium persulfate in an autoclave at 120°C and 1 bar for 2 hours followed by spectrophotometric quantification based on (Association Française de Normalisation, 1990) in an automated analyzer (Konelab 420-XTi, Thermofischer).

7. Biotic parameters

In June 2012, we deployed four pitfall traps at each plot across all study sites. One-hundred and eighty milliliter plastic jars (7-cm diameter) with inner rims at the surface level were buried and filled with 60 mL vinegar. A slope lid was suspended 2 cm above the trap opening to reduce the amount of rain and debris entering the trap. Pitfall traps were retrieved after one week in the field and invertebrates captured were stored in 70 % ethanol solution until processing. Detritivores (Diptera, Dermaptera, Diplopoda and Isopoda) were identified to species level except for larvae or damaged specimens, which were assigned to coarser taxonomic groups (Family or Order). Other invertebrates, including predators, were determined to the lowest practicable level.

In May 2012, plant species were exhaustively identified at each plot and classified as trees, shrubs or herbs. Species cover abundance was estimated based on six classes: rare, abundant but fewer than 5 %, 5 to 25 %, 25 to 50 %, 50 to 75 % and higher than 75 %. Plant species presence was used to calculate Ellenberg indexes for luminosity, acidity, N nutrition and moisture (Mueller-Dombois & Ellenberg, 1974). Jaccard indexes (Jaccard, 1908) were calculated to assess the similarity between plant communities.

Collection and characterization of leaf litter

In autumn 2011, we collected freshly abscised leaves of *Populus tremula* at the polluted and unpolluted sites. For this purpose, three nylon nettings (at 3 different locations of each site) were stretched 1.5 m above the ground to intercept falling leaf litter. Leaf litter from each site was air-dried and stored in the laboratory at room temperature for 4 weeks. Petioles were removed from leaves prior to determination of initial litter physical and chemical parameters and inclusion in litter-bags. A subsample of leaf litter from each site was used to assess initial leaf litter characteristics: leaf toughness, phenolic compounds, lignin, C, N, P, Cd, Pb and Zn. Leaf toughness was measured with rewetted leaves using a penetrometer and was expressed as Newton per millimeter square (Graça et al., 2005). Chemical analyses were performed on freeze-dried and finely ground litter material (< 1 mm). Phenolic compounds were extracted in 70% of aqueous Me₂CO for 2h. Phenolic compounds content was determined using the Folin-Ciocalteu spectrophotometric method based on the protocol described in (Box, 1983) using tannic acid as standard. Absorbance was corrected for non-phenolic compound interfering with the Folin-reagent based on the precipitation of phenolics with polyvinyl polypyrrolidone (Sigma-Aldrich, P6755; CAS number 9003-39-8). Leaf litter pH was measured according to Pérez-Harguindequy et al.(2013). Lignin content of leaf litter was determined gravimetrically using acid-detergent fibre method ((Loranger et al., 2002)). As for soil parameters (see 2.1.1.), contents of C and N were determined using a Carlo-Erba NA 2100 analyzer. Finally, P was assessed using ICP-OES (iCAP 6000 series, Thermoscientific).

Litter-bag experiment

The litter-bag method was used to assess effects of the site of litter exposure and the site of litter origin on litter decomposition and colonization by microbial decomposers and soil fauna.

Litter bags (L x W x H: 20 x 12 x 3 cm) were made of 5-mm square mesh extruded netting to confine leaf litter and coarse fragments produced during decomposition while allowing large invertebrate detritivores to pass through the mesh. We constructed 288 litter bags filled each with 3.5 g of air-dried leaf litter of a single origin. After leaf litter was introduced, one edge was bent prior to sealing in order to give an inflated shape to litter bags and thus prevent litter compaction.

In December 2011, a total of 288 litter-bags were deployed on the four study sites to produce a fully-factorial transplant experimental design (Figure 2.2). Litter-bags within sites were distributed evenly across the three independent plots. The on-site litter layer was removed before placing litter-bags at the soil surface individually. Bags were secured with biodegradable sticks. On the deployment day, three litter bags were taken at each site and manipulated in the same way as other litter bags and then brought back to the laboratory. The ash free dry mass (AFDM) of these litters were used as initial mass to take into account the potential mass loss due to handling during the deployment.

Litter-bags were retrieved after 72, 172 and 283 days of exposure in the field to assess changes in litter mass remaining and fungal biomass during decomposition. On each sampling date, two litter-bags by litter origin were randomly picked from each plot in each site (n=6). Litter-bags were stored individually in plastic bags and transported in a cooler to the laboratory. Remaining leaf litter material from each bag was separated from soil particles, exogenous organic matter, and visible animals, and was dried and weighed to the nearest 0.01 g. Litter mass remaining was expressed as the ratio of final-to-initial AFDM. Litter mass loss

rate (k , day⁻¹) was estimated for each site based on (Olson, 1963) using a non-linear regression approach.

Litter-associated biota

Ergosterol content of leaf litter as marker of fungal biomass was assessed from a set of replicate bags, one per plot, for each site, treatment and sampling occasion. Two 12-mm diameter litter disks cut out from two randomly picked leaves were used for ergosterol determination. Ergosterol was extracted from the pre-weighed freeze-dried disks of leaf litter in a hot KOH-methanol solution at 8 g l⁻¹ and the extract was then purified onto a solid phase cartridge (Oasis HLB, 60 mg, 3 cc; Waters®, Milford). Ergosterol content of leaf litter was quantified through high-performance liquid chromatography (HPLC) following (Chomel et al., 2014).

At the end of the decomposition experiment (day 283), 3 replicate litter bags per treatment (i.e. one by plot) were used to sample mesofauna. Before being freeze-dried (for litter mass loss determination, see part 2.4), leaf litter contained in litter bags were placed in a Berlese funnel for 7 days and mesofauna was collected in vials filled with 70% ethanol. Individuals were identified, counted and classified as detritivores, predators and undetermined trophic groups. Oribatida (Acarina), Collembola, small Diplopoda, Diptera and Lepidoptera larva and Isopoda were classified as detritivores. Mesofauna predators were Gamasidae (Acarina), Chilopoda, small Aranea, some Formicidae, Staphylinidae and Opiliones.

Statistics

One-way analyses of variance (ANOVAs) were not only used to assess effect of litter origin on initial physical and chemical characteristics of litter, but also to test the effect of litter exposure site on macrofaunal abundances in pitfall traps. The difference in macrofaunal community structure and composition among sites was assessed using permutational multivariate analysis of variance using Hellinger distance matrix (Anderson, 2001). Due to the heterogeneity of invertebrate abundance in each sample and the relationship between abundance and taxonomic richness, rarefied richness values (Table 2.4) were calculated using the "rarefaction" technique (Heck et al., 1975; Krebs, 1999). This technique simulates the random selection of a fixed number of individuals within each sample to be compared. Calculations were made with the "rarefy" function from the package "vegan" developed for the R software. Effects of litter origin, litter exposure site and interactive effect, were assessed for litter mass loss and fungal biomass in leaf litter, using a mixed-effects model. Mixed-effects model, with "plot" specified as a random factor, was used for analyzing litter mass remaining (ln-transformed) and fungal biomass because measures were repeated on three occasions on the same plots and thus were not independent (Zuur et al., 2009). Time of exposure in the field was set as a covariate in the model for ln-transformed litter mass remaining, so that the interactions between fixed factors and time elucidated differences in litter mass loss coefficients (Chomel et al., 2014). In the linear mixed effects model used for fungal biomass (ergosterol), time was set as a factor to detect potential non-linear changes through time.

Two-way ANOVA was used to assess litter origin and exposure site effects on mesofauna abundance in litter-bags collected at the third sampling date. A probability limit of 0.05 was considered as significant.

In all the above-mentioned analyses, the effect of “site”, whether mediated by litter chemistry (i.e. litter origin) or soil type (i.e. litter exposure), was evaluated using Helmert contrast coding. Planned orthogonal contrasts are straightforward to interpret and are more powerful approach than post-hoc pairwise comparisons (Quinn and Keough, 2002). Here the first contrast compared data from the polluted site to the grand mean of the three unpolluted sites and, accordingly, it tested for effects of soil pollution. The two remaining orthogonal contrast compared the unpolluted sites among each other and, thus, captured variance owing to spatial heterogeneity. All statistical analyses were performed with R 2.15.2 (R Development Core Team, 2012) and its extensions for conducting mixed-effects model (“nlme” package; (Pinheiro et al., 2012)2012) or permutational multivariate analysis of variance (“vegan” package;(Oksanen et al., 2013).

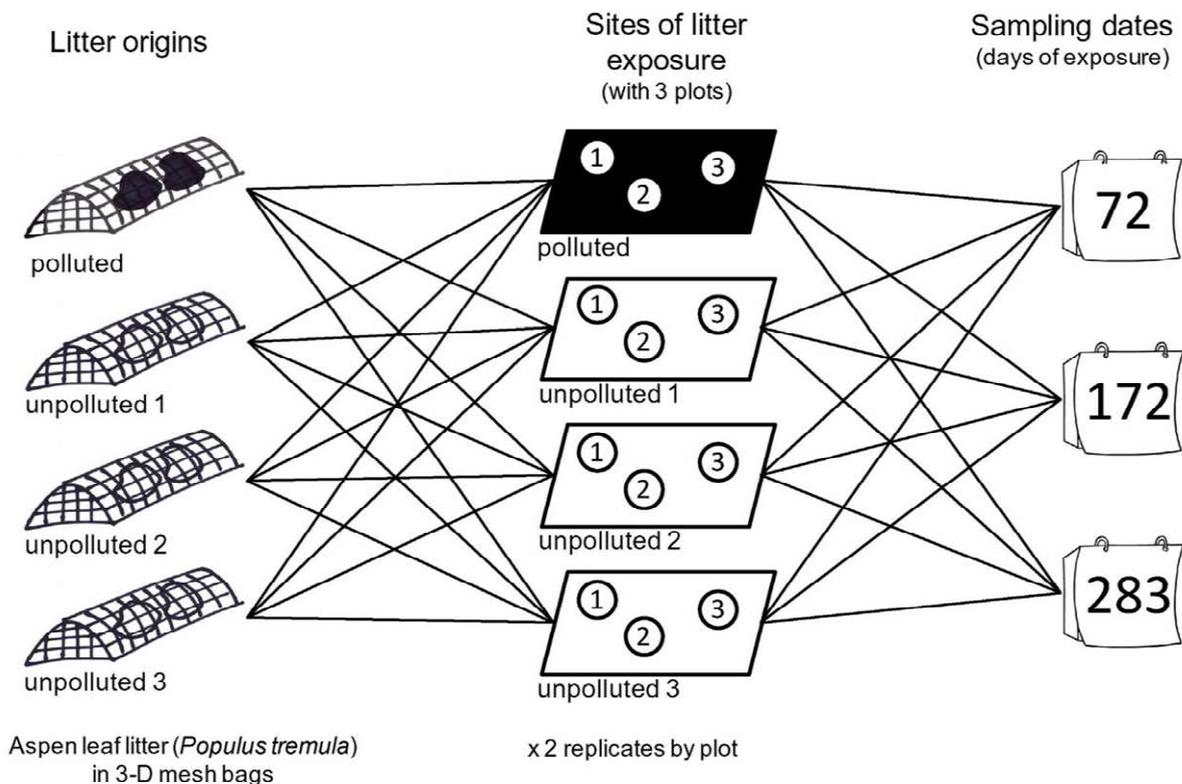


Figure 2.2 Scheme of the experimental design used. Leaf litter was reciprocally transferred to each study site (4 litter origins X 4 transfer sites).

Results

Site characteristics

Soil pH was neutral to slightly alkaline (6.9-7.8) with the highest and lowest values recorded in the polluted soil and in the unpolluted soil of unpolluted site 1, respectively (Table 2.1). Cation Exchange Capacity (CEC), nitrogen and phosphorus contents were threefold higher in the polluted soil than in unpolluted soils, and carbonates even fivefold higher. Although all soils contained detectable levels of trace metals, contents of cadmium, zinc and lead in the polluted soil far exceeded those measured in unpolluted soil. These contaminants were up to three orders of magnitude higher in the polluted soil (Table 2.1). Across all edaphic factors, variability among unpolluted sites was fairly small for most parameters with the exception of carbonate content, which was 10-fold higher in unpolluted site 3 than in unpolluted sites 1 and 2.

All sites were colonized by a species-rich (28 to 53 species) plant community typical of meso-hygrophilic forest. Mean Jaccard similarity index was 0.34 when calculated between the polluted and unpolluted sites and 0.32 when calculated among unpolluted sites, indicating that plant community dissimilarity was likely not due to soil pollution. Ellenberg indices for luminosity (5.1-5.8), moisture (5.4-5.9), acidity (6.6-7.2) and N nutrition (5.8-6.6) further suggest a high between-site similarity in these ecological factors.

Initial litter chemistry

Initial litter chemistry differed among batches of *P. tremula* leaf litter collected at four sites (Table 2.2). No differences between polluted site and unpolluted sites were observed for leaf toughness or contents of phenolic compounds, nitrogen and phosphorus. Leaf litter from the polluted site contained significantly less lignin and carbon, and more cadmium and zinc than

leaf litter from the three unpolluted sites ($P < 0.05$; Table 2.2). Litter cadmium and zinc contents were 3 to 10-fold higher in the litter from the polluted site than in those from unpolluted sites. Lignin content was 9% lower in the litter from the polluted site than in the three others. Smaller differences were found for carbon and lead contents although the former two in polluted litter were outside the range of values of litter from unpolluted sites. The lignin:N mass ratio did not differ between the polluted and non-polluted sites, while the C:N mass ratio was slightly different between leaf litters from the polluted and non-polluted sites, but heterogeneity was larger within the leaf litters from unpolluted sites. The leaf litter pH of the polluted site was significantly enhanced compared to the unpolluted sites. Except for pH, leaf litter toughness and phenolic compounds content, all litter chemical parameters varied significantly across the unpolluted sites (Table 2.2). This spatial variability was particularly strong for phenolic compounds ($3.4\text{-}8.7 \mu\text{g g}^{-1}$), phosphorus content ($0.8\text{-}1.6 \text{mg g}^{-1}$) and nitrogen content ($7.9\text{-}14.1 \text{mg g}^{-1}$), resulting also in a strong heterogeneity of lignin:N and C:N ratios.

Table 2.2 Initial chemistry of *P. tremula* leaf litter originating from a polluted site and three unpolluted sites. The mean value (SE) by site of litter origin is provided. Analyses of variance was used to assess whether individual litter characteristics values differed between polluted and unpolluted sites and among unpolluted sites. Abbreviations: Df = degree of freedom of the variable, degree of freedom of residuals.

Litter traits	Mean (SE) values by site				Pollution effect			Unpolluted sites heterogeneity			n
	Polluted	Unpolluted 1	Unpolluted 2	Unpolluted 3	df	F	P	df	F	P	
pH	6.7 (0.3)	6 (0.1)	6 (0.1)	6 (0.1)	1,7	12.9	0.009	2,7	0.3	0.758	11
Leaf area (cm ²)	23 (2.7)	18 (0.3)	21 (1)	19 (2.2)	1,36	3.5	0.099	2,36	0.9	0.439	40
SLA (cm ² g ⁻¹ DM)	134 (22)	123 (4)	108 (2)	119 (3)	1,36	1.8	0.222	2,36	0.5	0.637	40
Toughness (N mm ⁻²)	1 (0.15)	1.2 (0.12)	1.2 (0.13)	1.1 (0.15)	1,76	2.7	0.104	2,76	0.4	0.655	80
Ash (mg g ⁻¹ DM)	103 (6)	129 (12)	110 (6)	113 (0.3)	1,8	2.7	0.136	2,8	1.8	0.220	12
Lignin (mg g ⁻¹ AFDM)	188 (7)	201 (8)	229 (6)	207 (3)	1,8	11.0	0.011	2,8	5.1	0.037	12
Cellulose (mg g ⁻¹ AFDM)	166 (35)	128 (28)	168 (17)	158 (7)	1,8	0.30	0.601	2,8	0.7	0.505	12
Phenolic compounds (µg g ⁻¹ DM)	3.66 (1.1)	5.44 (1.3)	8.67 (1.7)	3.43 (0.8)	1,8	2.2	0.174	2,8	4.4	0.052	12
Carbon (mg g ⁻¹ DM)	466 (8)	481 (2)	475 (2)	496 (5)	1,8	9.7	0.014	2,8	4.5	0.050	12
Nitrogen (mg g ⁻¹ DM)	12 (0.2)	7.9 (0.4)	12.8 (0.2)	14.1 (0.3)	1,8	113.7	0.302	2,8	113.7	<0.001	12
C:N mass ratio	39 (0.8)	61 (3.6)	37 (0.8)	35 (0.9)	1,8	6.5	0.035	2,8	56.2	<0.001	12
Lignin:N mass ratio	15 (0.6)	16 (1)	18 (0.5)	27 (0.5)	1,8	3.2	0.109	2,8	139.8	<0.001	12
Phosphorus (mg g ⁻¹ DM)	1.2 (0.1)	1.3 (0.2)	1.7 (0.2)	0.8 (0.1)	1,8	0.1	0.766	2,8	27.6	<0.001	12
Cadmium (µg g ⁻¹ DM)	6.1 (0.42)	0.67 (0.03)	0.73 (0.03)	0.27 (0.03)	1,8	668.8	<0.001	2,8	46.3	<0.001	12
Lead (µg g ⁻¹ DM)	0.9 (0.03)	0.7 (0.03)	1 (0.06)	0.5 (0.06)	1,8	7.3	0.027	2,8	23.4	<0.001	12
Zinc (µg g ⁻¹ DM)	627 (24)	113 (4)	216 (10)	125 (4)	1,8	1057.9	<0.001	2,8	79.8	<0.001	12

Litter mass loss

At the end of the decomposition experiment, after 283 days of exposure in the field, all leaf litter had lost between 37 and 86 % of their initial mass. Litter mass loss through time followed an exponential mass loss pattern (non-linear regression: $R^2 = 0.77-0.98$; Figure 2.3). Mass loss rate (k) ranged from 0.0018 to 0.0066 day⁻¹ across all treatments.

The comparison of mass loss rates between polluted and unpolluted sites did not reveal any effect of soil pollution (Table 2.3; a: $P = 0.35$; a x time interaction: $P = 0.70$). Leaf litter exposed on the polluted soil exhibited mass loss rates ranging from 0.0026 to 0.0045 day⁻¹ (Figure 2.3.a), and were within the range of k calculated for unpolluted sites (0.0018-0.0066 day⁻¹). However, there were significant differences in mass loss rate among unpolluted sites, showing a strong natural spatial variability (b x time interaction: $P = 0.006$; Table 2.3). On

average across all litter origins, litter decomposition was the fastest at site U2 (Figure 3c) compared with sites U1 (Figure 3b) and U3 (Figure 3d).

The origin of leaf litter was overridingly important in determining mass loss rate and the difference of polluted vs unpolluted sites. Irrespective of the site of litter exposure, leaf litter from the polluted site lost its mass at higher rates than leaf litter originating from unpolluted sites (c x time interaction: $P < 0.001$; Figures 3a-d). Leaf litter originating from the three unpolluted sites decomposed at similar rates (d x time interaction: $P = 0.21$). The sites of litter exposure and litter origin had interactive effects on the litter decomposition rate (Table 2.3). Differences in decomposition rate of polluted and unpolluted litter batches were smallest when transferred to the polluted site (a x c x time interaction: $P = 0.037$, Table 2.3; Figure 3a) and to the unpolluted site U3 (b x c x time interaction: $P = 0.034$, Table 2.3; Figure 3d).

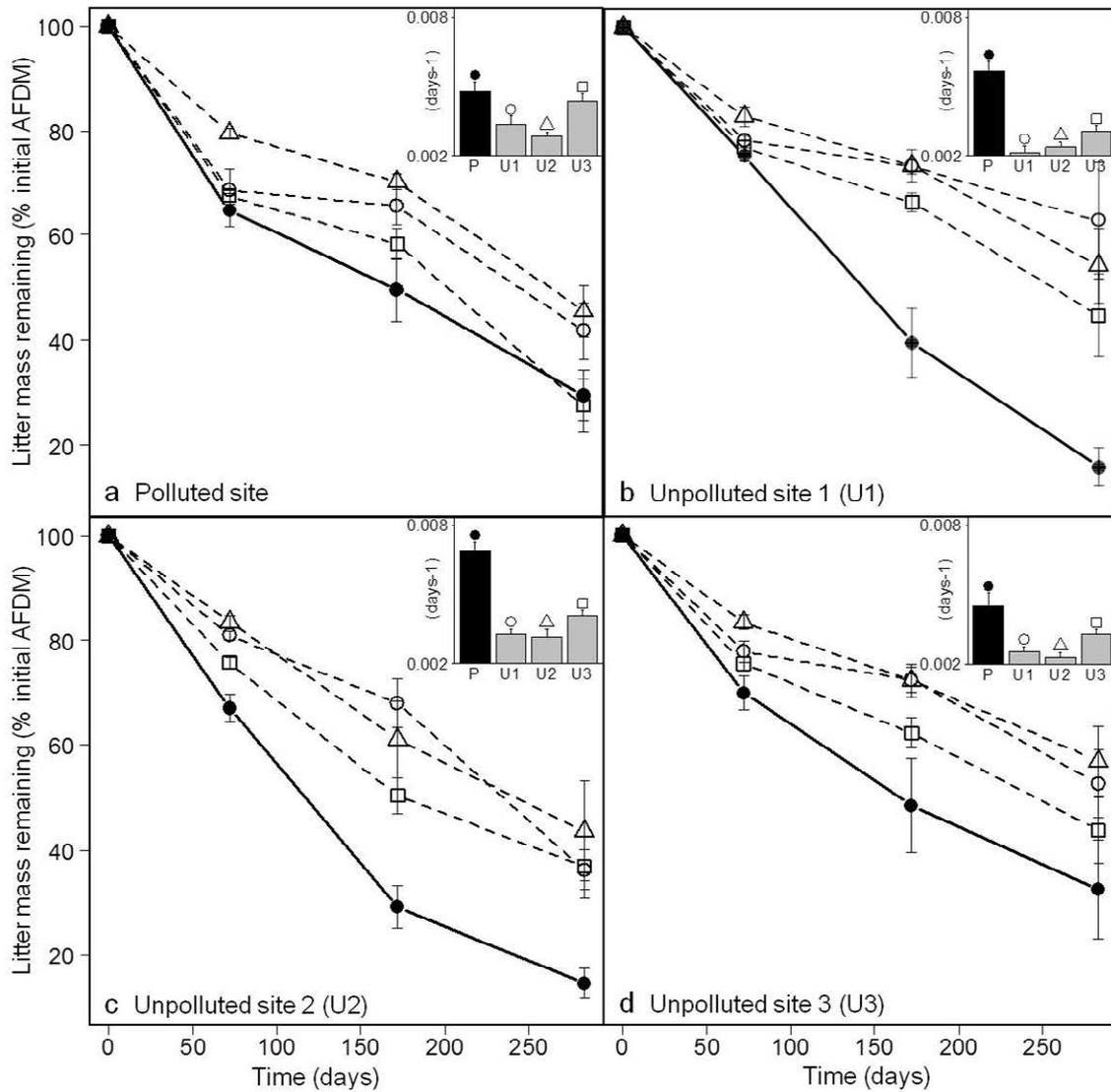


Figure 2.3 Effects of the site of litter exposure and the site of litter origin on litter decomposition. The main panels show changes through time of litter mass remaining (% AFDM) in mesh bags by site of litter exposure (a = polluted site, b = unpolluted site U1, c = unpolluted site U2, d = unpolluted site U3). Line patterns and symbols depict the site of litter origin (solid line and dot = leaf litter from the polluted site, dashed lines and open symbols = leaf litter from unpolluted sites). Inserts show the decomposition rate (k in day^{-1}) of leaf litter originating from the four study sites exposed in the focal site. Error bars depict SE.

Table 2.3 Summary of mixed-effects models assessing main and interactive effects of the site of litter exposure, the site of litter origin, and time on litter mass remaining in mesh bags and on ergosterol content in leaf litter. Plot was specified as a random factor to take into account repeated measurements on same plots. Variation among sites was partitioned into two components: the difference between the polluted site and the unpolluted sites (also referred to as a and c) and the remaining variability among unpolluted sites (b and d). Time of exposure in the field was set as a covariate in the model for ln-transformed litter mass remaining, so that interactions between treatments (i.e. sites) and time tested for differences in litter mass loss coefficients. In the linear mixed effects model used for fungal biomass (ergosterol), time was set as a factor to detect potential non-linear changes through time. Significant effects were highlighted in bold. Abbreviations: Df = degree of freedom of the variable, degree of freedom of residuals.

mixed-effects models results						
	ln (litter AFDM remaining)			ergosterol content		
	df	F	P	df	F	P
Site of litter exposure						
polluted vs unpolluted sites (a)	1,8	1	0.35	1,8	0.4	0.56
control heterogeneity (b)	2,8	3	0.11	2,8	1.2	0.36
Site of litter origin						
polluted vs unpolluted sites (c)	1,245	158	<.0001	1,83	0.1	0.73
control heterogeneity (d)	2,245	15	<.0001	2,83	4.5	0.014
Time of exposure in the field	1,245	479	<.0001	2,83	42	<.0001
Interactions						
a x c	1,245	10	0.002	1,83	0.3	0.56
a x d	2,245	1	0.37	2,83	0.7	0.49
b x c	2,245	2.4	0.09	2,83	2.7	0.071
b x d	4,245	0.2	0.95	4,83	1.9	0.117
a x time	1,245	0.2	0.70	2,83	0	0.97
b x time	2,245	5.2	0.006	4,83	2.6	0.04
c x time	1,245	19	<.0001	2,83	1.1	0.35
d x time	2,245	1.6	0.21	4,83	0.7	0.63
a x c x time	1,245	4.4	0.037	2,83	9.2	<.0001
a x d x time	2,245	0.5	0.64	4,83	3.2	0.016
b x c x time	2,245	3.4	0.034	4,83	1.3	0.29
b x d x time	4,245	0.8	0.53	8,83	3.3	0.002

Fungal biomass

Fungal biomass in leaf litter, as estimated by ergosterol content, either increased all along the exposure period in the field, or increased over time until reaching a peak or a plateau at ca. 172 days (Figure 2.4). Fungal biomass did not markedly differ among sites of litter exposure (polluted vs. unpolluted sites (a): $P = 0.56$; differences among unpolluted sites (b): $P = 0.36$; Table 2.3). Soil pollution did not mediate any effect of litter origin on fungal colonization (c: $P = 0.73$; Table 2.3). However, fungal biomass at day 283 discriminated leaf litter originating from different unpolluted sites (d: $P = 0.014$): lower biomass was found in leaf litter from site U2 (mean value = $0.33 \mu\text{g g}^{-1}$) than from site U1 (mean value = $0.44 \mu\text{g g}^{-1}$) and U3 (mean value = $0.45 \mu\text{g g}^{-1}$; Figure 2.4).

Leaf litter originating from the polluted site was colonized by fungi more rapidly in its home field (i.e. the polluted site) where fungal biomass peaked at 172 days (Figure 2.4.a). Such an early peak was not recorded for the same leaf litter exposed in unpolluted sites (Figure 2.4.b-d). For the unpolluted site U3, fungal biomass peaked early when leaf litter was exposed in its home field than in other sites (Figure 2.4.d).

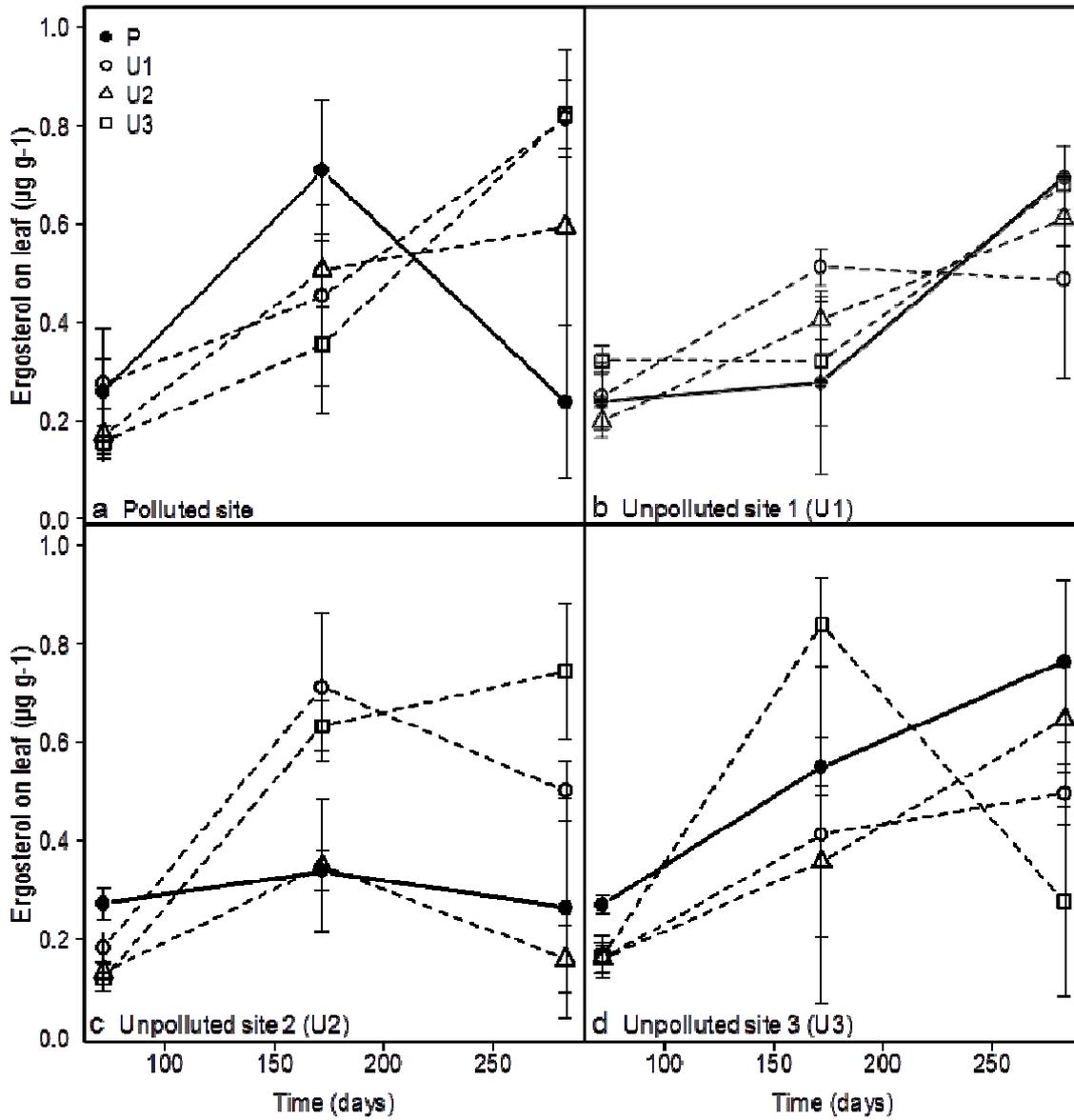


Figure 2.4 Effects of the site of litter exposure and the site of litter origin on fungal colonization of leaf

litter. Main panels show change through time of ergosterol content of the litter by site of litter exposure (a = polluted site, b = unpolluted site U1, c = unpolluted site U2, d = unpolluted site U3).

Line patterns and symbols depict the site of litter origin (solid line and dot = leaf litter from the polluted site, dashed lines and open symbols = leaf litter from unpolluted sites). Data are shown as

means \pm SE, n = 3

Invertebrates

Litter-bags retrieved at the end of the decomposition experiment (after 283 days) contained between 2 and 233 individuals. Mesofauna communities were dominated by Acarina (81%). Total mesofauna abundance in litter bags differed significantly among sites of litter exposure (Figure 2.5.a; polluted vs unpolluted sites: $F_{1,29} = 34$, $P < 0.001$; unpolluted site heterogeneity: $F_{2,29} = 6.2$, $P = 0.008$). Mesofauna was >3-fold more abundant in litter-bags exposed on the polluted soil than on any unpolluted soil. In contrast, the effect of litter origin, alone or in combination with the site of litter exposure (i.e. two-way interaction) was not significant ($P > 0.08$). The same held true for abundance of detritivorous mesofauna, which was significantly correlated with total mesofauna abundance ($r = 0.98$) and represented 77% of identified mesofauna (Figure 2.5.a).

Thirteen to 19 macrofauna taxa were captured in pitfall traps deployed on each site between day 199 and 206 (i.e. between the second and third litter-bag retrieval). Traps contained between 11 and 90 individuals. There were significant differences between the polluted and the non-polluted sites (Figure 2.5.b). Macrofauna abundance was nearly 2-fold higher in the polluted site than in unpolluted sites ($F_{1,41} = 27$, $P < 0.001$). Likewise, detritivorous macrofauna abundance was twice as high in the polluted site than in unpolluted sites ($F_{2,41} = 27$, $P < 0.001$). No significant differences were found among unpolluted sites (total abundance: $F_{2,41} = 2.4$, $P = 0.09$; detritivores : $F_{2,41} = 1.9$, $P = 0.17$). The structure and composition of the macrofauna community differed significantly between polluted and unpolluted sites (Analysis of Similarity, Hellinger distance: $F_{1,41} = 6.1$, $P = 0.001$) and among unpolluted sites ($F_{2,21} = 7.4$, $P = 0.001$). The polluted site had fewer taxa than the unpolluted sites (13 vs 16-19). This difference was primarily due to rare taxa (< 2%), which were 3-fold more numerous in unpolluted sites than in the polluted site (Table 2.4). Rarefied richness confirmed this result and showed the similarity between control sites. Compared with

unpolluted sites, the polluted site had a greater proportion of detritivorous taxa, predominantly Diplopoda. Curculionidae were rare (<1%) in unpolluted sites but were common (7.4%) at the polluted site (Table 2.4). In contrast, Araneae trapped in unpolluted sites were twice as high as in the polluted site.

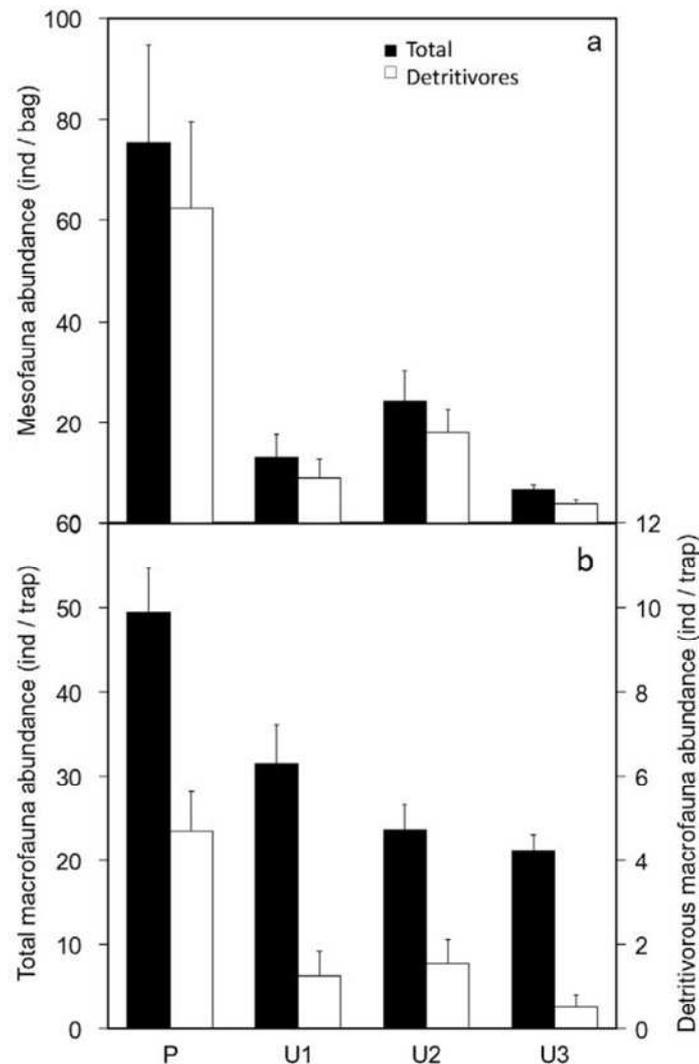


Figure 2.5 Mesofauna in litter-bags sampled at the end of the decomposition experiment (a) and macrofauna captured in pitfall traps (b) in a polluted site (P) and unpolluted sites (U1-3). a) Total abundance (plain bars; left y-axis) and b) abundance of detritivores only (open bars; right y-axis). Mean values by site for mesofauna were calculated across all litter origin treatments because no effect of litter origin was detected (see text). Data are shown as means

\pm SE, $n = 12$ bags for mesofauna; $n = 10$ traps for macrofauna.

Table 2.4 Summary of macrofauna community data at the polluted site and three unpolluted sites. Relative abundance of taxa (%), sorted by trophic levels: abundant taxa (> 2 %) are shown in bold. Macrofauna richness is reported for total macrofauna and more abundant taxa. Rarefied richness values were estimated for a number of individuals of 254 matching the size of the smallest sample (U3).

Macrofauna		Taxa abundance (%)			
		Polluted	Unpolluted 1	Unpolluted 2	Unpolluted 3
Total number of trapped individuals		494	378	260	254
Detritivores					
Diptera larva		-	-	0.95	0.59
Dermoptera	Forficulidae	0.36	0.64	-	0.29
Julida (Diplopoda Class)	<i>Ommatoiulus sabulosus</i>	4.32	1.50	0.63	0.29
	<i>Cylindroiulus punctatus</i>	2.88	0.21	-	-
	<i>Cylindroiulus</i>	-	0.43	-	-
Isopoda	Porcellio	-	0.21	1.27	0.29
	<i>Philoscia muscorum</i>	0.72	0.64	1.59	0.59
	<i>Armadillidium vulagre</i>	-	-	0.63	-
	<i>Oniscus asellus</i>	0.54	-	0.32	-
	<i>Armadillidium nasatum</i>	-	0.21	-	-
Predators					
Araneae		4.86	12.42	13.97	10.26
Opilionida		-	1.50	-	0.88
Chilopoda	Chilopoda	-	0.21	1.59	-
Coleoptera	Staphylinidae	15.29	7.28	20.95	4.40
Other trophic groups					
Hymenoptera	<i>Lasius flavus</i>	-	0.21	-	-
	<i>Lasius niger</i>	-	7.28	1.27	-
	<i>Myrmecina graminicola</i>	-	-	-	1.76
	<i>Myrmica rubra</i>	25.90	24.84	17.46	9.68
	<i>Stenamma debile</i>	-	0.21	0.63	1.47
	<i>Temnothorax nylanderi</i>	3.42	-	2.54	19.35
Hemiptera		8.45	4.50	3.81	2.93
Stylommatophora	Limacidae	1.26	-	0.95	1.47
Coleoptera		13.49	17.99	13.33	19.35
	Curculionidae	7.37	0.43	0.63	0.88
Lepidoptera larva		-	0.21	-	-
Number of taxa > 2% (observed richness)		9	6	6	6
Taxonomic richness (observed richness)		13	19	17	16
Taxonomic richness (rarefied richness; n = 254)		12.6 ±0.6	16.4 ±1.3	17.0 ±0.1	16.0 ±0.0

Discussion

Differences in leaf litter chemistry between the polluted and unpolluted sites

Due to its technogenic origin, the polluted soil investigated in this study has extremely high concentrations of trace metals (Huot et al., 2013). Plants growing there may experience physiological stress and exhibit some phenotypic responses affecting ecologically meaningful traits (Di Baccio et al., 2009; Elobeid et al., 2012; Stoláriková et al., 2012). We consider that the elevated concentrations of cadmium and zinc in *P. tremula* leaf litter collected at the polluted site are related to the absorption of these trace metals by roots and transfer to the aboveground biomass, even on alkaline soil. Similar findings have been made by Vandecasteele et al. (2008, 2009). It is worth noting that, in the polluted site, the ratio of metal concentrations in soil vs. leaf litter was much greater for cadmium than zinc whereas lead enrichment of leaf litter was quite low relative to the high lead concentration in soil. Both findings are in line with a large body of evidence indicating highly variable tree uptake and/or internal fate of different trace metals (Liu et al., 2007; Unterbrunner et al., 2007; Brunner et al., 2008). Further studies are needed to investigate if and how metal pollution might affect physiological changes in leaves and subsequently characteristics of leaf litter. Our study showed a higher trace metal content associated with higher pH, lower lignin and slightly lower carbon content in leaf litter from the polluted, thus suggesting that trace metal pollution affected leaf characteristics. Leaf litter pH for a given species in unpolluted environments has been shown to be constant, and independent from soil type (Cornelissen et al., 2011). In our study, the significant intra-specific variations between polluted and unpolluted litter remains unexplained, but suggest that characteristics of the polluted soil and subsequent tree processes do not allow the maintenance of this robust plant trait. We strongly encourage more measurements of leaf litter pH in polluted areas to assess potential emerging patterns.

Moreover, we may assume that trees growing in the polluted site might allocate energy away from the production of structural carbon such as lignin towards toxic tolerance and resistance functions. Although consistent with empirical evidence of trade-offs between growth and resistance to toxic stress (Hermle et al., 2006; Durand et al., 2010), this hypothesis stands in contrast with findings by (Kieffer et al., 2008) showing that cadmium stress in aspen trees can rather stimulate the production of proteins involved in lignin biosynthesis. There seem thus context-dependent responses of plant traits to trace metal pollution, which hinder a generalization of findings from single-case studies.

*Indirect effect of soil pollution on leaf litter decomposition through change
in litter degradability*

Populus tremula leaf litter originating from the polluted site decomposed at consistently faster rates than leaf litter originating from unpolluted sites. This finding differs from that by (Van Nevel et al., 2014) who did not show any conspicuous effects of trace metal pollution on aspen leaf litter decomposition rate. Yet, both the present and previous studies do not provide support of the hypothesis that soil pollution will lower plant litter degradability. Litter degradability is generally related positively to nutrient content (e.g., nitrogen and phosphorus) and negatively to C:nutrient ratios or the content of lignin and phenolic compounds (Berg & McClaugherty, 2003; Schweitzer et al., 2004; Cornwell et al., 2008). In our study, nitrogen and phosphorus contents and phenolic compounds did not significantly contribute to the intraspecific leaf variability of *P. tremula* leaf litter characteristics, suggesting that lignin content was one of the most important traits for determining litter degradability. In addition, litter pH has been shown as positively correlated with litter decomposition in temperate woody species (Cornelissen et al., 2006). Higher litter pH observed on the polluted site could

have resulted in a greater development of microbial biomass and thus in a higher litter decomposition activity (Keeler et al., 2009) compared to our unpolluted sites.

Cadmium and zinc are toxic elements, and litter rich in these elements should have a low degradability compared with unpolluted litter. Trophic contamination by trace metals has been shown to affect Diplopoda community structure (da Silva Souza et al., 2014), and soil pollution has been reported to reduce the reproduction rate of Collembola (Visioli et al., 2013). Likewise, multiple lines of evidence indicate that the presence of trace metals directly affects fungal and bacterial community size and structure (e.g., Giller et al., 2009). Such toxic effects are not evidenced by our study since the polluted leaf litter did not have lower degradability, fungal biomass or mesofauna density.

Differences in soil parameters between the polluted and unpolluted sites

The soil at the polluted site has much higher organic matter content associated with higher carbon, nitrogen and phosphorus contents. The origin of the organic matter in the surface horizon of the polluted site is both anthropogenic (i.e. coming from the steel sludge) and biological (mainly of plant origin) (Huot et al 2014b). The accumulation of organic matter at the soil surface appears to be due 1) to the soil structure, which would lead to the stabilization and accumulation of the soil organic matter at soil surface, like in andosols, and 2) to a lack of endogeic species (such as earthworms) that possibly limited the incorporation of soil organic matter to deeper soil levels (Cortet & Nahmani, unpublished results). Endogeic earthworms were extremely rare on the polluted site, and it was assumed that this could be linked to the soil toxicity. The few earthworms collected showed high Cd and Zn, but not elevated Ph contents (Cortet & Nahmani, unpublished results). The physical properties of the soil such as high water retention capacity, compact structure of some layers, might also explain a low earthworm abundance. The lack of endogeic species is a probable explanation of the slow

incorporation of organic carbon and its accumulation at the surface, thus creating a favorable niche for developing mesofauna and aboveground macrofauna including Diplopoda, which are present in higher proportions (Figure 2.5).

Direct effects of soil pollution on leaf litter decomposition: changes in fauna community structure.

Previous studies have shown that litter decomposition rates are reduced in forest soil affected by chronic trace metal pollution compared with paired control sites (McEnroe & Helmisaari, 2001; Johnson & Hale, 2004). The cross-site comparison in our study has not detected such effect despite extremely high concentrations of cadmium and zinc in the polluted soil. Irrespective of the litter origin, litter mass loss rate was more variable among unpolluted sites than between polluted and unpolluted sites. Whether the stability of the rate of litter decomposition against soil pollution in our study was due to low biological availability of toxic forms, high tolerance of soil biota to contamination and/or ecological dynamics cannot be determined accurately. A non-exclusive explanation is that deleterious effects of toxic metals on decomposer performance may have been outweighed by the numerical increase of detritivorous invertebrates, such as Diplopoda (macrofauna) and Oribatida (mesofauna), and high nitrogen and phosphorus availability for microbial decomposers in the polluted soil.

In donor-controlled food webs, such as in forest floor, bottom-up regulation of the density of macrofauna and its contribution to litter decomposition may prevail (Ponsard et al., 2000; Gessner et al., 2010; Handa et al., 2014). Accordingly, greater macrofauna abundance in the polluted site may reflect higher amount and/or quality of litter fall. We further suggest that greater macrofauna density/activity may be due to release from top-down control in the polluted site where spider (Araneae) density was lower than in unpolluted sites. Spiders captured in pitfall traps are actively hunting predators, which can trigger conspicuous density

and behavioural responses of their prey (Schmitz, 2004). The rationale for our hypothesis is that higher trophic levels are more affected by contaminants notably because of chemicals accumulating along trophic chains. This phenomenon, called biomagnification is currently reported for persistent and lipophilic organic substances, but no real consensus exists about metal biomagnification. To date, Cd biomagnification has been reported both in aquatic (Croteau et al., 2005) and terrestrial ecosystems (van den Brink et al., 2010), and may yield to high mortality and/or reproduction failure in major predator groups.

The ‘home-field advantage’ theory in soil pollution context

The ‘home-field advantage’ hypothesis (Ayres et al., 2009; Gholz et al., 2000) states that a leaf litter species should decompose faster in its home field than in fields where the species does not grow. Home-field advantage results from specialization of decomposer communities to litter type characteristic of a given ecosystem (Ayres et al., 2009). Our full-factorial transplant experimental design allowed us to investigate the home-field advantage hypothesis at the intraspecific level, i.e. soil pollution may select biota that are better adapted to process and consume trace-metal rich leaf litter. Our data provide only equivocal support to the occurrence of such a mechanism. Two results may suggest some adaptations of organisms and communities to the polluted site. First, fungal biomass on polluted leaf litter peaked earlier when litter was exposed in its homefield (i.e. polluted site). Second, mass loss rates of leaf litter from different origins were more alike when exposed in the polluted site than in unpolluted sites. Taken together these findings might indicate that a trace-metal resistant microbial community has developed at the polluted site.

Conclusions

An important message from the present study is that litter chemistry can override litter consumers in determining effects of soil pollution on litter decomposition. This is consistent with the hypothesis of bottom-up regulation of soil food webs by litter characteristics. Intriguingly, there is no evidence from the present study that pollution can weaken consumer control on litter decomposition through acute and chronic toxicity. Similar decomposition rates across sites and higher abundance of meso- and macrofauna in the polluted site suggest that some mechanisms are likely to sustain process rates in disturbed ecosystems. These trends were not identified in all previous studies, underscoring the need to elucidate factors underlying the context-dependent effects of trace metal pollution on soil ecosystem functioning. Further empirical and experimental research on diverse polluted sites should aim to define ecological indicators through quantification of both biodiversity and ecosystem functions such as litter decomposition. In our study faunal communities actually differed on the polluted site whereas the litter decomposition process was maintained in the heavily polluted soil. This discrepancy between structural and functional indicators emphasizes the need to incorporate ecosystem processes in assessment schemes for soil quality and restoration success, such as successfully shown with leaf litter decomposition in streams (Woodward et al., 2012).

Acknowledgments

This study was supported by the « Agence De l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie » (ADEME), and the « Observatoire Terre Environnement Lorrain » (OteLo). The authors thank Lucas Charrois and Rémi Baldo from the French Scientific Interest Group – Industrial Wasteland (GISFI), Gabriel Moinet, Philippe Rouselle, Alain Rakoto and Romain Goudon for their technical help. We also thank the four reviewers that improved the manuscript, Jean-François David and Rumsaïs Blatrix for their help in validating macrofauna identification, and Maël Garaud, Faustine Charmasson, Julio & Evelyne Arce, Luc Härter and Louise Maunoury for their help in making litter bags. The experiments comply with the current French laws.

References

- Aerts, R. (1997). Climate, leaf litter chemistry and leaf litter decomposition in terrestrial ecosystems: a triangular relationship. *Oikos*, 439–449.
- Anderson, M. J. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26(1), 32–46.
- Aran, D., Maul, A., & Masfaraud, J.-F. (2008). A spectrophotometric measurement of soil cation exchange capacity based on cobaltihexamine chloride absorbance. *Comptes Rendus Geoscience*, 340(12), 865–871.
- Association Française de Normalisation. (1990). Eaux-Méthodes d'Essais. *Ed. AFNOR*.
- Ayres, E., Steltzer, H., Berg, S., & Wall, D. H. (2009). Soil biota accelerate decomposition in high-elevation forests by specializing in the breakdown of litter produced by the plant species above them. *Journal of Ecology*, 97(5), 901–912.

- Berg, B., & McClaugherty, C. (2003). Plant litter. *Decomposition, Humus Formation, Carbon Sequestration*. Berlin, DE. © Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Box, J. D. (1983). Investigation of the Folin-Ciocalteu phenol reagent for the determination of polyphenolic substances in natural waters. *Water Research*, 17(5), 511–525.
- Brunner, I., Luster, J., Günthardt-Goerg, M. S., & Frey, B. (2008). Heavy metal accumulation and phytostabilisation potential of tree fine roots in a contaminated soil. *Environmental Pollution*, 152(3), 559–568.
- Chomel, M., Fernandez, C., Bousquet-Mélou, A., Gers, C., Monnier, Y., Santonja, M., Gauquelin, T., Gros, R., Lecareux, C., & Baldy, V. (2014). Secondary metabolites of *Pinus halepensis* alter decomposer organisms and litter decomposition during afforestation of abandoned agricultural zones. *Journal of Ecology*, 102(2), 411–424.
- Conn, C., & Dighton, J. (2000). Litter quality influences on decomposition, ectomycorrhizal community structure and mycorrhizal root surface acid phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(4), 489–496.
- Cornelissen, J. H. C., Queded, H. M., van Logtestijn, R. S. P., Pérez-Harguindeguy, N., Gwynn-Jones, D., Díaz, S., Callaghan, T. V., Press, M. C., & Aerts, R. (2006). Foliar pH as a new plant trait: can it explain variation in foliar chemistry and carbon cycling processes among subarctic plant species and types? *Oecologia*, 147(2), 315–326.
- Cornelissen, J. H., Sibma, F., Van Logtestijn, R. S., Broekman, R. A., & Thompson, K. (2011). Leaf pH as a plant trait: species-driven rather than soil-driven variation. *Functional Ecology*, 25(3), 449–455.
- Cornwell, W. K., Cornelissen, J. H., Amatangelo, K., Dorrepaal, E., Eviner, V. T., Godoy, O., Hobbie, S. E., Hoorens, B., Kurokawa, H., Pérez-Harguindeguy, N., & others. (2008). Plant species traits are the predominant control on litter decomposition rates within biomes worldwide. *Ecology Letters*, 11(10), 1065–1071.

- Coughtrey, P. J., Jones, C. H., Martin, M. H., & Shales, S. W. (1979). Litter accumulation in woodlands contaminated by Pb, Zn, Cd and Cu. *Oecologia*, 39(1), 51–60.
- Coûteaux, M.-M., Bottner, P., & Berg, B. (1995). Litter decomposition, climate and litter quality. *Trends in Ecology & Evolution*, 10(2), 63–66.
- Croteau, M.-N., Luoma, S. N., & Stewart, A. R. (2005). Trophic transfer of metals along freshwater food webs: Evidence of cadmium biomagnification in nature. *Limnology and Oceanography*, 50(5), 1511–1519.
- da Silva Souza, T., Christofolletti, C. A., Bozzatto, V., & Fontanetti, C. S. (2014). The use of diplopods in soil ecotoxicology—A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 103, 68–73.
- Di Baccio, D., Tognetti, R., Minnocci, A., & Sebastiani, L. (2009). Responses of the *Populus×euramericana* clone I-214 to excess zinc: Carbon assimilation, structural modifications, metal distribution and cellular localization. *Environmental and Experimental Botany*, 67(1), 153–163.
- Driebe, E. M., & Whitham, T. G. (2000). Cottonwood hybridization affects tannin and nitrogen content of leaf litter and alters decomposition. *Oecologia*, 123(1), 99–107.
- Durand, T. C., Hausman, J. F., Carpin, S., Albéric, P., Baillif, P., Label, P., & Morabito, D. (2010). Zinc and cadmium effects on growth and ion distribution in *Populus tremula* X *Populus alba*. *Biologia Plantarum*, 54(1), 191–194.
- Egli, M., Sartori, G., Mirabella, A., Giaccai, D., Favilli, F., Scherrer, D., Krebs, R., & Delbos, E. (2010). The influence of weathering and organic matter on heavy metals lability in silicatic, Alpine soils. *Science of the Total Environment*, 408(4), 931–946.
- Elobeid, M., Göbel, C., Feussner, I., & Polle, A. (2012). Cadmium interferes with auxin physiology and lignification in poplar. *Journal of Experimental Botany*, 63(3), 1413–1421.

- Gallego, S. M., Pena, L. B., Barcia, R. A., Azpilicueta, C. E., Iannone, M. F., Rosales, E. P., Zawoznik, M. S., Groppa, M. D., & Benavides, M. P. (2012). Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. *Environmental and Experimental Botany*, 83, 33–46.
- Gessner, M. O., Swan, C. M., Dang, C. K., McKie, B. G., Bardgett, R. D., Wall, D. H., & Hättenschwiler, S. (2010). Diversity meets decomposition. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(6), 372–380.
- Gholz, H. L., Wedin, D. A., Smitherman, S. M., Harmon, M. E., & Parton, W. J. (2000). Long-term dynamics of pine and hardwood litter in contrasting environments: toward a global model of decomposition. *Global Change Biology*, 6(7), 751–765.
- Giller, K. E., Witter, E., & McGrath, S. P. (2009). Heavy metals and soil microbes. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(10), 2031–2037.
- Graça, M. A. S., Bärlocher, F., & Gessner, M. O. (2005). *Methods to study litter decomposition: a practical guide*. Springer.
- Grime, J. P., Cornelissen, J. (Hans) H. C., Thompson, K., & Hodgson, J. G. (1996). Evidence of a Causal Connection between Anti-Herbivore Defence and the Decomposition Rate of Leaves. *Oikos*, 77(3), 489–494.
- Haimi, J., & Mätäsniemi, L. (2002). Soil decomposer animal community in heavy-metal contaminated coniferous forest with and without liming. *European Journal of Soil Biology*, 38(2), 131–136.
- Handa, I. T., Aerts, R., Berendse, F., Berg, M. P., Bruder, A., Butenschoen, O., Chauvet, E., Gessner, M. O., Jabiol, J., & Makkonen, M. (2014). Consequences of biodiversity loss for litter decomposition across biomes. *Nature*, 509(7499), 218–221.

- Hättenschwiler, S., Hagerman, A. E., & Vitousek, P. M. (2003). Polyphenols in litter from tropical montane forests across a wide range in soil fertility. *Biogeochemistry*, *64*(1), 129–148.
- Hättenschwiler, S., & Vitousek, P. M. (2000). The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *Trends in Ecology & Evolution*, *15*(6), 238–243.
- Hermle, S., Günthardt-Goerg, M. S., & Schulin, R. (2006). Effects of metal-contaminated soil on the performance of young trees growing in model ecosystems under field conditions. *Environmental Pollution*, *144*(2), 703–714.
- Huot, H., Simonnot, M. O., Watteau, F., Marion, P., Yvon, J., De Donato, P., & Morel, J. L. (2013). Early transformation and transfer processes in a Technosol developing on iron industry deposits. *European Journal of Soil Science*.
- Jaccard, P. (1908). Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bulletin De La Societe Vaudoise Des Sciences Naturelles*, *44*, 223–270.
- Johnson, D., & Hale, B. (2004). White birch (*Betula papyrifera* Marshall) foliar litter decomposition in relation to trace metal atmospheric inputs at metal-contaminated and uncontaminated sites near Sudbury, Ontario and Rouyn-Noranda, Quebec, Canada. *Environmental Pollution*, *127*(1), 65–72.
- Keeler, B. L., Hobbie, S. E., & Kellogg, L. E. (2009). Effects of long-term nitrogen addition on microbial enzyme activity in eight forested and grassland sites: implications for litter and soil organic matter decomposition. *Ecosystems*, *12*(1), 1–15.
- Kieffer, P., Dommes, J., Hoffmann, L., Hausman, J.-F., & Renaut, J. (2008). Quantitative changes in protein expression of cadmium-exposed poplar plants. *Proteomics*, *8*(12), 2514–2530.

- Liu, Y.-J., Zhu, Y.-G., & Ding, H. (2007). Lead and cadmium in leaves of deciduous trees in Beijing, China: Development of a metal accumulation index (MAI). *Environmental Pollution*, 145(2), 387–390.
- Loponen, J., Lempa, K., Ossipov, V., Kozlov, M. V., Girs, A., Hangasmaa, K., Haukioja, E., & Pihlaja, K. (2001). Patterns in content of phenolic compounds in leaves of mountain birches along a strong pollution gradient. *Chemosphere*, 45(3), 291–301.
- Loranger, G., Ponge, J.-F., Imbert, D., & Lavelle, P. (2002). Leaf decomposition in two semi-evergreen tropical forests: influence of litter quality. *Biology and Fertility of Soils*, 35(4), 247–252.
- McEnroe, N. A., & Helmisaari, H.-S. (2001). Decomposition of coniferous forest litter along a heavy metal pollution gradient, south-west Finland. *Environmental Pollution*, 113(1), 11–18.
- Moore, J. C., Berlow, E. L., Coleman, D. C., Ruitter, P. C., Dong, Q., Hastings, A., Johnson, N. C., McCann, K. S., Melville, K., Morin, P. J., & others. (2004). Detritus, trophic dynamics and biodiversity. *Ecology Letters*, 7(7), 584–600.
- Mueller-Dombois, D., & Ellenberg, H. (1974). Aims and methods of vegetation ecology.
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Kindt, R., Oksanen, M. J., & Suggests, M. (2013). Package “vegan.” *Community Ecology Package Version*, 2, 1–180.
- Olson, J. S. (1963). Energy Storage and the Balance of Producers and Decomposers in Ecological Systems. *Ecology*, 44(2), 322–331.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., & Team, R. C. (2012). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models, 2012. *R Package Version*, 3.1–105.
- Ponsard, S., Arditì, R., & Jost, C. (2000). Assessing top-down and bottom-up control in a litter-based soil macroinvertebrate food chain. *Oikos*, 89(3), 524–540.

- Schmitz, O. J. (2004). Perturbation and abrupt shift in trophic control of biodiversity and productivity. *Ecology Letters*, 7(5), 403–409.
- Schweitzer, J. A., Bailey, J. K., Rehill, B. J., Martinsen, G. D., Hart, S. C., Lindroth, R. L., Keim, P., & Whitham, T. G. (2004). Genetically based trait in a dominant tree affects ecosystem processes. *Ecology Letters*, 7(2), 127–134.
- Stoláriková, M., Vaculík, M., Lux, A., Di Baccio, D., Minnocci, A., Andreucci, A., & Sebastiani, L. (2012). Anatomical differences of poplar (*Populus* × *euramericana* clone I-214) roots exposed to zinc excess. *Biologia*, 67(3), 483–489.
- Unterbrunner, R., Puschenreiter, M., Sommer, P., Wieshammer, G., Tlustoš, P., Zupan, M., & Wenzel, W. W. (2007). Heavy metal accumulation in trees growing on contaminated sites in Central Europe. *Environmental Pollution*, 148(1), 107–114.
- Van Beelen, P., & Doelman, P. (1997). Significance and application of microbial toxicity tests in assessing ecotoxicological risks of contaminants in soil and sediment. *Chemosphere*, 34(3), 455–499.
- van den Brink, N., Lammertsma, D., Dimmers, W., Boerwinkel, M.-C., & van der Hout, A. (2010). Effects of soil properties on food web accumulation of heavy metals to the wood mouse (*Apodemus sylvaticus*). *Environmental Pollution*, 158(1), 245–251.
- Van Nevel, L., Mertens, J., Demey, A., De Schrijver, A., De Neve, S., Tack, F. M., & Verheyen, K. (2014). Metal and nutrient dynamics in decomposing tree litter on a metal contaminated site. *Environmental Pollution*, 189, 54–62.
- Vandecasteele, B., Quataert, P., Genouw, G., Lettens, S., & Tack, F. M. (2009). Effects of willow stands on heavy metal concentrations and top soil properties of infrastructure spoil landfills and dredged sediment-derived sites. *Science of the Total Environment*, 407(20), 5289–5297.

- Vandecasteele, B., Samyn, J., De Vos, B., & Muys, B. (2008). Effect of tree species choice and mineral capping in a woodland phytostabilisation system: A case-study for calcareous dredged sediment landfills with an oxidised topsoil. *Ecological Engineering*, 32(3), 263–273.
- Visioli, G., Menta, C., Gardi, C., & Conti, F. D. (2013). Metal toxicity and biodiversity in serpentine soils: Application of bioassay tests and microarthropod index. *Chemosphere*, 90(3), 1267–1273.
- Vos, V. C., van Ruijven, J., Berg, M. P., Peeters, E. T., & Berendse, F. (2011). Macro-detrivore identity drives leaf litter diversity effects. *Oikos*, 120(7), 1092–1098.
- Wardle, D. A., Bardgett, R. D., Klironomos, J. N., Setälä, H., Van Der Putten, W. H., & Wall, D. H. (2004). Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, 304(5677), 1629–1633.
- Woodward, G., Gessner, M. O., Giller, P. S., Gulis, V., Hladyz, S., Lecerf, A., Malmqvist, B., McKie, B. G., Tiegs, S. D., Cariss, H., Dobson, M., Elosegı, A., Ferreira, V., Graça, M. A. S., Fleituch, T., Lacoursière, J. O., Nistorescu, M., Pozo, J., Risnoveanu, G., Schindler, M., Vadineanu, A., Vought, L. B.-M., & Chauvet, E. (2012). Continental-Scale Effects of Nutrient Pollution on Stream Ecosystem Functioning. *Science*, 336(6087), 1438–1440.
- Yang, X., Yang, Z., Warren, M. W., & Chen, J. (2012). Mechanical fragmentation enhances the contribution of Collembola to leaf litter decomposition. *European Journal of Soil Biology*, 53, 23–31.
- Zuur, A., Ieno, E. N., Walker, N., Saveliev, A. A., & Smith, G. M. (2009). *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Springer.

Chapitre II

*Généralisation de l'absence d'effet direct de
la pollution pour huit friches industrielles de
France métropolitaine*



Préambule

Dans le chapitre I, du fait d'un maintien du taux de décomposition sur une friche industrielle hautement polluée aux ETM, nous avons mis en évidence l'absence d'un effet direct de la pollution des sols sur la capacité des acteurs de la décomposition (faune : détritivores et microorganismes décomposeurs : bactéries et champignons) à réaliser les processus de cette fonction, et ce malgré des modifications de la structure de leurs communautés sous l'effet de la pollution ou d'autres propriétés spécifiques du sol de friche industrielle étudié.

L'objectif principal de ce chapitre a été de vérifier si cet effet observé sur une friche industrielle particulière pouvait être généralisé à l'ensemble des friches industrielles. Pour ce faire, nous avons sélectionné huit sites pollués (7 friches industrielles et un site naturellement riche en éléments traces métalliques) répartis selon un axe nord-sud en France métropolitaine. Lors de la sélection de ces sites, un intérêt particulier a été porté à la diversité de la forme de la pollution présente dans les sites (polluants retrouvés et teneurs en ces polluants) afin d'avoir des situations de pollution les plus représentatives de l'ensemble des friches industrielles. Afin de se focaliser sur l'effet direct de la pollution, nous avons mis à décomposer une litière homogène non-polluée sur l'ensemble des huit sites et également sur huit sites témoins (non-pollués) associés. En parallèle, la contribution des différents acteurs de la décomposition a été étudiée sur les différents sites. Pour ce faire, deux tailles de maille de sacs à litière ont été utilisées, l'une permettant l'accès à la litière pour l'ensemble des acteurs et l'autre, plus fine, excluant les détritivores. Par ailleurs, les microorganismes décomposeurs ont été étudiés plus finement, à la fois en évaluant leur colonisation des litières et également en mesurant indirectement leurs activités en suivant la dynamique des teneurs en N et C des litières au cours de la décomposition.

Manuscrit d'article : Excessive pollutant loading in forest soil of brownfields does not alter leaf litter decomposition

En préparation

Pierre Lucisine^a, Antoine Lecerf^b, Aurélie Cébron^c, Michaël Danger^a, Franck Gilbert^b,

Elisabeth M. Gross^a, Hélène Roussel^d, Florence Maunoury-Danger^a

^aLaboratoire interdisciplinaire des environnements continentaux, CNRS UMR 7360, Université de Lorraine, 8, rue du général Delestraint, 57070 Metz, France

^bLaboratoire écologie fonctionnelle et environnement, CNRS UMR 5245, Université Toulouse III, 118, route de Narbonne, 31062 Toulouse, France

^cLaboratoire interdisciplinaire des environnements continentaux, CNRS UMR 7360, Université de Lorraine, Faculté des Sciences et Techniques, F-54506 Vandoeuvre Lès Nancy, France

^dAgence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie, 27 rue Louis Vicat, 75015 Paris, France

Abstract

In Brownfields, soil pollution and other modified soil characteristics, can negatively affect communities and activities of microorganisms, animals and plants. Despite these multiple impairments, highly polluted sites can support structurally complex and dynamic ecosystems. The aim of this study was to assess the effect of soil pollution and other soil perturbations on leaf litter decomposition, one of the most important ecosystem functions. Eight polluted sites and paired control sub-sites all across France territory were selected. Polluted sub-sites exhibited a strong gradient in pollution intensity based on a score for the type and concentration of different pollutants found. We carried out litter bag experiment using leaf litter of *Betula pendula* Roth. sampled from a control sub-site. We also determined litter colonization by microbial communities and the dynamics of leaf litter carbon and nitrogen contents during decomposition. Irrespective of pollutant score, litter decomposition proceeded at similar rates in polluted and paired control sites. Changes involved in the decomposition

process were underlined by higher nitrogen immobilization in litter exposed at the polluted sites. This change could be linked to the effect of soil anthropisation (*i.e.* pollution and other specific soil properties) on the microbial community structure, which colonized litters. One effect on the community structure was the increase in relative abundance of bacteria compared to fungi on the litter from the polluted site. Our results show that despite potential effects of soil pollutants and modified soil characteristics on decomposition actors, the rate of litter decomposition was maintained.

Introduction

As 50 % of primary production fill the detritus pool (Cebrian, 1999), plant litter decomposition has a major importance in driving carbon and nutrient biogeochemical cycles (Moore et al., 2004). Litter decomposition ensures transformation and mineralization of dead organic matter (Wardle et al., 2004; Gessner et al., 2010). This process is driven by three main factors, the biotope (climate and soil physicochemical properties), the leaf litter quality (Cadisch et Miller, 1997; Coûteaux et al., 1995) and the organisms involved in the process (Aerts, 1997). All factors act or vary at different spatiotemporal scales, and thus create a huge variability at the local scale as observed for soil structure (Kuka et al., 2007; Bachmann et al., 2008) or evapotranspiration (Berg et al., 1993).

If climatic conditions are similar, changes in factors influencing litter decomposition at the local scale should be primarily depending on the variability between different natural soils, including alterations of the soil by anthropogenic pollution (Huot et al., 2013). Past centuries of industrialization and mineral exploitation have left a huge number of brownfields characterized by altered soil characteristics and soil pollution. Organic pollutants, such as Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) and inorganic pollutants as Trace Metal Elements

(TME, such as Cadmium (Cd), Zinc (Zn), Lead (Pb) or Arsenic (As)), are frequently found in polluted sites as single or mixed multiple pollution (O'Connell et al., 2008).

These pollutants and associated changes in soil characteristics may impair litter decomposition actors: detritivores and microorganisms. Detritivores found in the soil fauna are involved in litter fragmentation, the decomposition process leading to the production of small litter fragments and feces (Tajovsky et al., 1992). Soil pollutants can negatively affect Diplopoda (Hopkin et al., 1985; Köhler et al., 1995), earthworms (Ma, 1988; Spurgeon & Hopkin, 1999; Spurgeon et al., 2000) and Collembola (Visioli et al., 2013). This can lead to a disturbance of soil fauna community structures, and thus indirectly affect the litter decomposition function (Cragg & Bardgett, 2001; Vos et al., 2011). Microorganisms are highly important in the decomposition process, as their enzymatic activities are involved in a further degradation of litter, specifically the degradation of organic matter, including highly recalcitrant carbon form as lignin (Li et al., 1995; Robertson et al., 2008; Dungait et al., 2012). Soil pollution and associated changes in soil characteristics can induce impairments in microorganism community structures (Baath, 1989; Brandt et al., 2006). These changes ultimately affect microbial enzymatic activities as N mineralization (Van Beelen & Doelman, 1997; Andreoni et al., 2004). The negative effect of soil pollutants on the actors (detritivores and microorganisms) involved in litter decomposition, together with distinct changes in soil properties of brownfields, might result in a major impairment of the litter decomposition process.

Indirect evidence indicates negative effects of soil pollutants on litter decomposition. A soil polluted by multiple TME showed a higher storage of plant litter than unpolluted soils (Coughtrey et al., 1979). Similar findings were observed in decomposition experiments (McEnroe & Helmisaari, 2001; Johnson & Hale, 2004). However, this negative effect has not always been observed. Recently, we studied both effects of pollution and associated changes

in soil characteristics on leaf litter decomposition in a brownfield. We showed that poplar leaf litter decomposition, despite changes in microbial and detritivore communities, was not affected by soil anthropisation (*i.e.* pollution and change in other soil properties) (Lucisine et al., 2015). These contrasting results warrant the need of larger scale studies on litter decomposition in brownfields. A large scale study could also provide more information about bacterial activities in these sites, as N-mineralization is an important process of the decomposition function. This process is known to show changes in a pollution context (Khan & Scullion, 2002)

Many brownfields remain abandoned and unmanaged, and a poor understanding of the ecological functioning of these polluted sites hampers strongly their successful ecological restoration. To evaluate the ecological status of brownfields and their restoration, several bio-indicators for plants (Fai et al., 2007; Remon et al., 2013), animals (Cortet et al., 1999; De Vaufleury et al., 2013) and microorganisms (Dequiedt et al., 2011; Ranjard et al., 2009) have been proposed. They are based on detailed evaluations of pollutant effects on individual traits, activities and community structures. However, effects of pollutants on the whole ecosystem cannot be fully evaluated by focusing on individual species or species groups without a direct measure of key ecosystem functions. A bioindicator based on the rate of leaf litter decomposition could provide a guideline value useful to select priority actions in brownfield management.

We carried out a litter bag experiment in 8 paired polluted and control sites to generalize, for different pollution types and intensities, our previous prediction of the maintenance of leaf litter decomposition in polluted environments (Lucisine et al., 2015), and to further develop a function-based bioindicator. As the evaluation of stress effects on litter decomposition in aquatic environments underlined the need of standardization of the substrate used in the decomposition study (Gessner & Chauvet, 2002), we selected birch litter for all sites. We

tested three hypotheses: 1) Litter decomposition rate based on litter mass loss is not be affected by soil pollution. 2) The contribution of fauna and microorganisms to litter decomposition process remains. 3) Microbial activities are impaired by soil pollution, leading to changes in the elemental content in C and N and resulting C/N ratio in litter during the decomposition, process.

Material & methods

Study sites

Eight sites located from north to south in France (Table 3.1, Figure 3.1) were studied. For each site, two sub-sites were selected, one polluted and one unpolluted (*i.e.*, control). Control sites have been chosen to be close to the associated polluted site (9.3 km on average) taking care of the same altitude and comparable soil properties. To take into account sub-site soil heterogeneity, three independent plots (50 cm x 100 cm) separated by 20 m were defined in each of the sixteen study sub-sites. Soil pollution largely differed among the eight polluted sub-sites, both in terms of type and intensity of pollution, and is detailed in the following table (table 3.1, Appendix 2). Site A is the settling pond of a former steel mill, site B is a still working steel mill characterized by the highest diversity and quantity of pollutants among all polluted sites. Site C pollution originates from paper mill activities between the 18th century and 1940 and from gold mine activities between 1875 and 1953. Site D is characterized by high, Cd, Zn and Pb pollution from a Zn and Pb smelting plant active between 1893 and 2003. Site F is the brownfield of an old coking plant. The pollution sources of sites G and H originate from former gold mines. Site E is located on serpentine rock, a geological structure naturally rich in Co, Cr, and Ni. The main properties of all sites are shown in Table 3.1, and

further detailed properties, including pollutant contents are available as supplementary information.

Table 3.1 Main properties of experimental sites, sorted from highly polluted (A) to less polluted (H) sites based on a pollution score described below. Full data per site are available as supplementary information.

Main site properties	Values by site							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Distance between sub-sites (m)	5490	2110	832	9270	1140	186	432	1630
Altitude (m)	198	227	173	16	688	230	329	252
Sum precipitation (mm)	745.7	548.8	909.6	575.5	1296.4	778.5	683.2	1199.4
Mean temperature (°C)	11.3	12.3	14.1	11.0	8.5	10.4	13.8	14.3
Main pollutants	Cd, Cu, Pb, Sb, Tl, Zn, PAH	Co, Cr, Mo, Ni, Pb, Zn, PAH	As, Cd, Pb, Zn	Cd, Cu, Pb, Sb, Zn	Co, Cr, Ni	PAH	As	As, Pb
Pollution source	Settling pond of a steel mill	Still working steel mill	Paper mill and gold mine activities	Zn and Pb smelting plant	Serpentine rock naturally riche in metal	Coking plant	Former gold mine activities	Former gold mine activities
Pollution gradient	+  -							

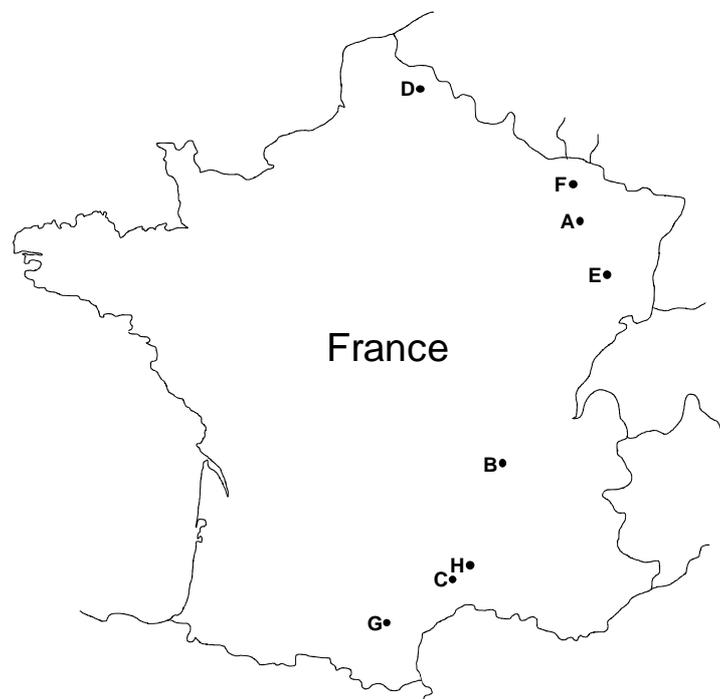


Figure 3.1 Localization of the eight experimental sites in France

Soil and climate characterization

In May 2013, superficial soil (A horizon) samples were collected and pooled from the four corners of each three plots per sub-site ($n = 1$). All analyses were performed, following standardized methods, on 2 mm sieved soil by LAS-INRA (Arras, France). cation-exchange capacity (CEC), pH, total and organic carbon, total nitrogen, phosphorus, total content in main TME (As, Cd, Co, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, Sb and Zn) and content in sixteen PAH of the US-EPA list (naphthalene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene, benzo(a)anthracene, chrysene, benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene, dibenzo(ah)anthracene, benzo(ghi)perylene, indeno(123cd)pyrene and acenaphthylene) were measured. Total PAH content was estimated using the sum of the 16 PAHs contents. Granulometric results are expressed as mass ratios of clay ($< 2 \mu\text{m}$), fine lime (2-20 μm), coarse lime (20-50 μm), fine sand (50-200 μm) and coarse sand (200-2000 μm) to estimate a mean particle size for each site.

The content of each TME and the total PAH content, were used to sort localities from the most polluted (A) to the least polluted (H). For each pollutant, the content in all 16 sub-sites was used to calculate the interquartile range. For each polluted sub-site, a score was calculated based on the number of pollutants for which the content was higher than 1.5 times the interquartile range. When two polluted sub-sites had the same score, the one with the higher total content of pollutants was considered as the more polluted. This score was not based on toxicity differences between pollutants.

During the experimental period, from January to November 2013, total rainfall, mean temperature and mean potential evapotranspiration (PET) were obtained using data from the closest weather stations (METEO-France, 2013).

Sampling and characterization of leaf litter

In autumn 2012, freshly abscised birch leaves (*B. pendula*) was collected at a site known to be unpolluted. For this purpose, nylon nettings were deployed around trees 1.5 m above the ground to intercept falling leaf litter. Leaf litter was air-dried and stored in the laboratory at room temperature. Petioles were removed from leaves, and leaf litter was characterized by measuring toughness, phenolic compounds, lignin and C, N and P contents as described in Lucisine et al. (2015). Further details of the performed analyses and results are provided as supplementary material (Appendix 1).

Litter bags experiment

The litter bag method was used to assess the effect of the site of litter exposure (polluted vs. control sub-site) on litter decomposition and colonization by microorganisms. Two mesh sizes were used. The coarse mesh size litter bags (CB; L x W: 20 x 12 cm; mesh width: 5 mm) allowed macrofauna and microorganism to access to the litter. The fine mesh size litter bags (FB; L x W: 20 x 12 cm; mesh size: 0.5 mm) excluded mesofauna from the litter. We constructed 144 litter bags of each mesh size filled with 2.5 g of air dried birch litter leaves for FB and 3.5 g for CB. An inflated shape (3 cm high) was given to CB in order to increase access to the litter for the fauna.

In January 2013, a total of 288 litter bags were deployed on the 16 study sub-sites. Litter bags within sub-sites were distributed evenly across the three independent plots. The on-site litter layer was removed before placing litter bags individually at the soil surface. Bags were secured with bamboo sticks. On the deployment day, nine litter bags were taken per site and then brought back to the laboratory to evaluate litter loss during deployment process. The mean ash-free dry mass (AFDM) of the litter per site was used as initial dry mass. Litter ash

content was measured after burning at 500°C for 3 h. Litter bags were retrieved after 98, 176 and 277 days of exposure in the field to assess differences in remaining litter mass. At each sampling date, one litter bag per mesh size was randomly picked from each plot in each sub-site ($n = 3$). Litter bags were stored individually in plastic bags and transported in a cooler to the laboratory. Remaining leaf litter material from each bag was separated from soil particles, exogenous organic matter, and visible animals, by hand, and was freeze-dried and weighed to the nearest 0.01 g. Litter mass remaining was expressed as the ratio of final-to-initial AFDM. Litter decay rate (k , day^{-1}) was estimated for each site based on Olson's litter decay model (Olson, 1963) using a non-linear regression approach.

Decomposed litter characterization

Freeze-dried litter from all CB were ground to fine powder to determine carbon and nitrogen contents using a Carlo-Erba NA 2100 analyzer. The contents of these elements are expressed as mass per mass of remaining litter, and monitored along the experiment period. The C:N ratio is expressed as molar ratio.

The abundance of bacteria and fungi, which colonized the litter, was assessed in 277 days old litter from FB. Two 12-mm diameter litter disks were cut out from three randomly picked leaves before freeze-drying the remaining litter, and stored at -80 °C. Estimation of the bacterial and fungal community abundance was performed using real-time PCR quantification of the 16S and 18S rRNA genes following the protocol of Cébron et al. (2008) and Thion et al. (2012), respectively. Briefly, genomic DNA was extracted from the litter by using Fast DNA spin kit for soil (MP Biomedicals) on 6 litter disks (0.1-0.2 g corresponding weight), and resuspended in 100 μl of DES (Dnase-Free water). DNA concentrations and quality (purity ratio A_{260}/A_{280}) were measured using a spectrophotometer (UV1800, Shimadzu) equipped with a TrayCell unit (Hellma). 16S and 18S rRNA genes were amplified with the

968F/1401R primer ((Felske et al., 1998) and Fung5F/FF390R (Lueders et al. 2002) using CFX96 Real-Time PCR detection system (Bio-Rad). PCR amplification (20 μ l) was performed using 2X iQ Sybr Green SuperMix (Bio-Rad), 0.8 μ l of each primer (10 μ M), 0.4 μ l of Bovine Serum Albumin (3%), 0.2 μ l of Dimethylsulfoxide, and 0.08 μ l of T4gp32 (500 μ g/ml) (MP Biomedicals). Ten-fold dilutions of standard plasmids (range between 10^8 to 10^1 target gene copies μ l⁻¹), were used for calibration of the real-time PCR assays. Number of 16S and 18S rRNA copies, respectively gave an estimation of the abundance of bacteria and fungi on the litter. At the end, 16S and 18S rRNA gene quantifications were expressed as 18S to 16S ratio for each litter extract.

Statistics

Effects of the site pollution (polluted sub-site vs. control sub-site), the mesh size as well as the time of exposure in the field (as cofactor) and interactive effects were assessed using mixed-effects models. These analyses were performed on the remaining log-transformed mass, the remaining total carbon, the remaining total nitrogen, and the resulting C:N molar ratio in litter. In the models, site was used as random variable. Usefulness of the random term was verified by computing likelihood ratio tests between mixed-effects models and generalized linear models with the same response and explaining variables. A probability limit of $p = 0.05$ was considered as significant.

Effect sizes were computed only for day 277 data and for the litter C and N remaining, C:N ratio and the 18S to 16S ratio. For each variable and site, the log ratio between the mean value at the polluted sub-site and at the control sub-site was computed. Ratio and confidence values were computed using MetaWin 2.1 (Rosenberg, Adams and Gurevitch, 2002). The same software was used to compute mean effect size and confidence value, after bootstrap re-sampling. Effect sizes were considered as significant when zero was excluded from the

confidence intervals. Other statistical analyses were performed with R 2.15.2 (R Development Core Team, 2012) and its extensions for conducting mixed-effects model (“nlme” package; Pinheiro et al., 2012) or PCA (“ade4” package; (Dray et al., 2007).

Results

Site characteristics and classification

The 16 polluted sites selected for the experiment exhibited a large diversity in their soil pollution (Table 3.1, Appendix 2). The polluted sub-site F had the highest pollution by total PAH (213.8 mg kg⁻¹) whereas total PAH at the other sites ranged from 0.5 (site E) to 21.4 mg kg⁻¹ (site B). Sites polluted by TME showed either mono-pollution (site G, As 1950 mg kg⁻¹) or multi-contamination, with site B showing the highest diversity of pollutants with Cr (1190 mg kg⁻¹), Cu (470 mg kg⁻¹), Ni (606 mg kg⁻¹), Zn (1650 mg kg⁻¹), Pb (1270 mg kg⁻¹) and Mo (252 mg kg⁻¹). A multivariate analysis elucidated the major factors responsible for differences between paired polluted and non-polluted sites, and among all sites (Figure 3.2). The first component of the PCA based on pollutant contents at the different sites (Figure 3.2.a) highly discriminated coupled sites with their soil pollutant contents. Furthermore, vectors in this PCA plan confirmed that for all sites the polluted sub-site was more polluted than the control site (Figure 3.2.b).

The site projection in the environmental PCA plan (Figure 3.2.c) showed an overlap between the confidence areas for all polluted and all control sub-sites, which underlines that paired sub-sites could not be discriminated by the measured environmental parameters. The vectors (Figure 3.2.c) do not shown any pattern, confirming the PCA results. Both pollutants PCA and environmental PCA results confirm that polluted sub-sites and control sub-sites could only be discriminated by pollution variables.

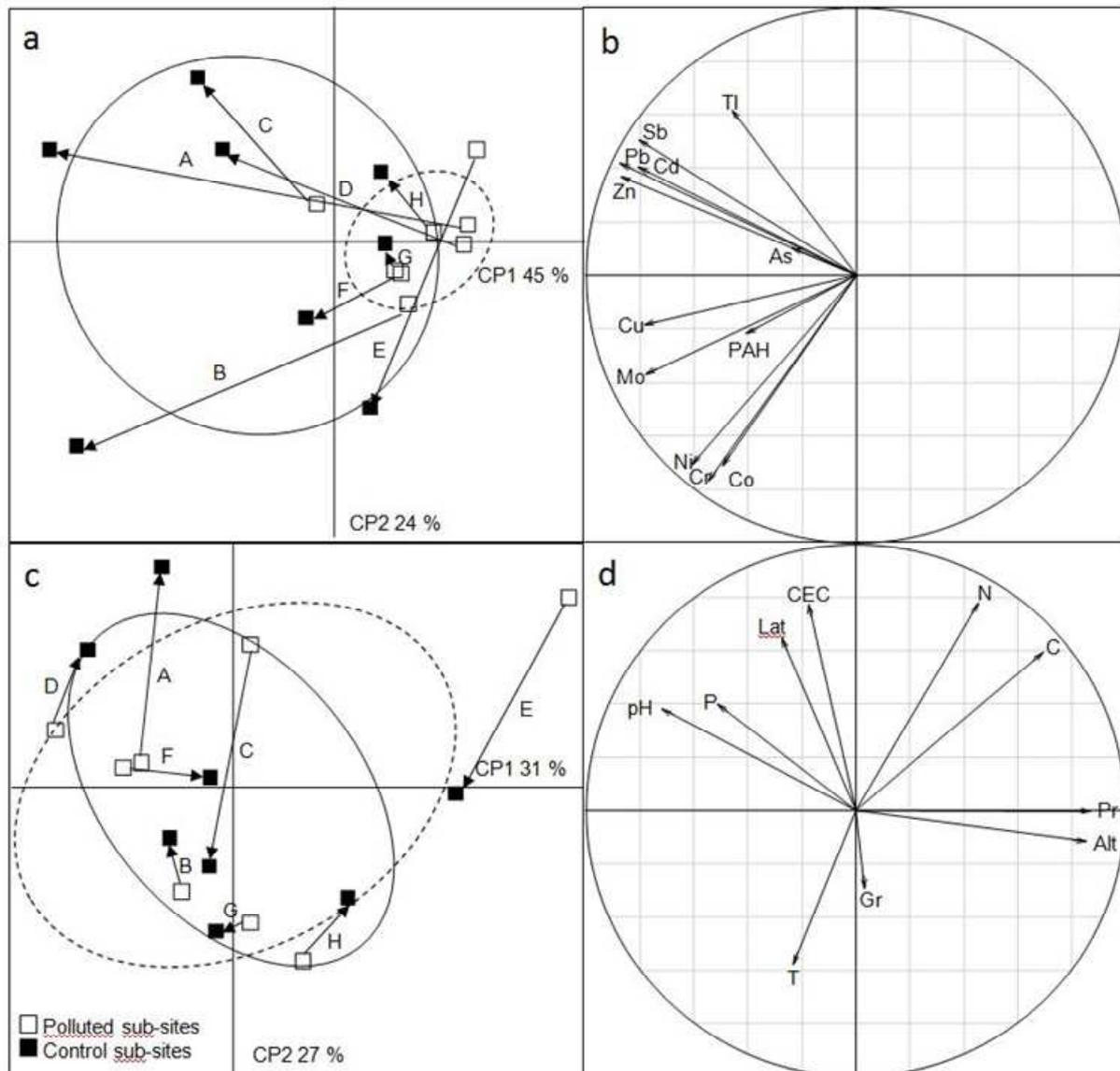


Figure 3.2 Distribution of experimental sites on the PCA factorial plan based on pollution (a) and environmental variables (c). Ellipses show confidence areas for polluted sub-sites (black symbols, straight line) and control sub-sites (white symbols, hatched line). Polluted and control sub-sites from the same locality are linked with an arrow. Correlations between variables used for the pollution PCA (b) and environmental factor PCA (d) are shown as vector plots next to the respective PCA plots. Pollution variables used in (a) and (b) were based on the content of all inorganic pollutants and the total PAH content in soil. Environmental soil variables used in (c) and (d) were pH, CEC, content in C, N, and P, temperature (T), latitude (Lat), precipitation (Pr), altitude (Alt) and soil granulometry (Gr). Letters next to the vectors in panels (a) and (c) indicate the different sub-sites.

Rate of litter mass loss

At the end of the experiment, after 277 days of exposure in the field, leaf litter had lost between 41 and 100 % of the initial mass, with a mean of 58 % (Figure 3.3). Litter mass loss through time followed an exponential decay (non-linear regression: pseudo R^2 of Cox and Snell = 0.28 to 0.97). The k values for polluted sub-sites ranged between 0.0027 and 0.0057 day^{-1} , and overlapped with the range found at control sub-sites (0.0026 to 0.0055 day^{-1}). Comparison of mass loss rates between polluted and control sub-sites, both mesh sizes included, did not reveal any effect of soil pollution ($F_{1,28} = 0.34$, $P = 0.56$).

All sub-sites taken into account, mesh size had a significant effect on decomposition ($F_{1,28} = 6.75$, $P = 0.014$). With few exceptions, a positive effect of the fauna on the decomposition rate (k) was observed with a $k_{\text{coarse}}:k_{\text{fine}}$ ratio higher than 1 (Figure 3.4).

For polluted sub-sites, the ratio ranged from 0.87 (site B) to 1.64 (site D), and for control sub-sites between 0.94 (site H) and 1.46 (site A). Extreme values observed in polluted sub-sites were not linked to extreme values observed in control sub-sites. No difference in these ratios was observed between all polluted sites and control sites (Wilcoxon test; $P = 0.7984$).

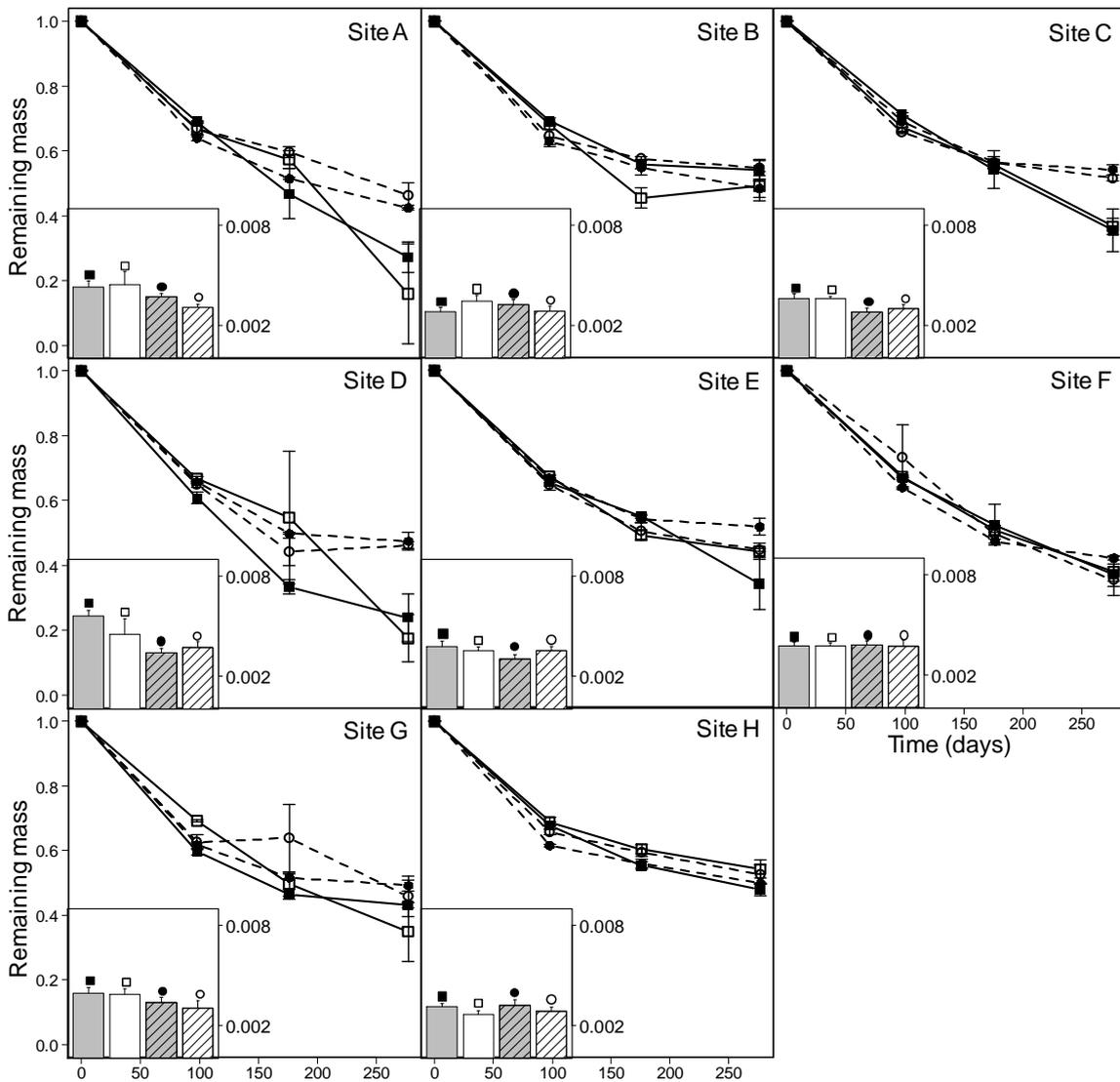


Figure 3.3 Site-specific differences in litter decomposition between polluted and control sub-sites, for coarse and fine mesh litter bags (CB, FB). The main panels show changes over time for the proportion of litter mass remaining based on initial mass in CB (solid lines and square symbols) and FB (hatched lines and circle symbols) by sub-site of litter exposure (filled symbols = polluted sub-sites; empty symbols = control sub-sites). Inserts show the decomposition rate (k in day^{-1}) for polluted sub-sites (grey bars) and control sub-sites (white bars) depending on mesh size (CB – no pattern, FB - hatched pattern). Data show means \pm standard errors.

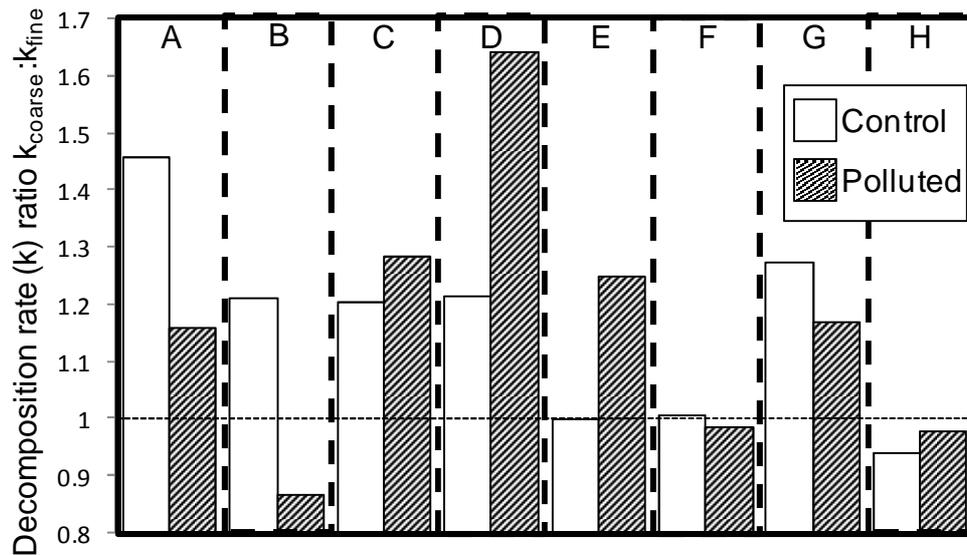


Figure 3.4 Ratio of decomposition rates found in coarse and fine mesh litter bags. A ratio above 1 indicates a higher contribution of soil fauna to the degradation process. Ratios were calculated for control (white bars) and polluted sub-site (hatched bars) of each site (A to H).

Microbial colonization

Effect sizes, calculated with the 18S:16S ratio, were negative and significantly different from zero except for sites F and G. These negative effect sizes reveal that the 18S:16S ratio was lower on litter from polluted sub-sites than the one from control sub-sites, which underlines an increase of relative abundance of bacteria compared to fungi in polluted sub-sites. At site G, the opposite was observed and at site F, no significant difference was observed (Figure 3.5.a). Except for site H, the lowest coefficients were observed for sites with the highest pollution scores.

Microorganism activities on carbon and nitrogen dynamic

The initial carbon content in leaf litter (48 ± 2 % of DM) significantly decreased, and the final C mass remaining ranged between 58 and 0 % of the initial carbon content. After 277 days in the field, with a mean value of 40 % of remaining carbon, no pollution effect was observed (pollution effect: $F_{1,256} = 0.001$; $P = 0.98$). Confidence area of the coefficient from the mean effect size calculated with the remaining carbon in the litter ranged between -0.005 and 0.075 for FB and between -0.120 and 0.101 for CB (Figure 3.5.b). Both confidence intervals included zero, indicating that the remaining C content in litter did not differ between polluted and control sub-sites for both mesh sizes. The naturally polluted site E showed a specific response to the high content in trace metal content with an effect size coefficient of -0.442 for CB, which is much lower compared to other polluted sub-sites. For this site, the remaining carbon, in litter from the CB, was significantly lower in the polluted site than in the control one.

The mean initial nitrogen content was 0.80 ± 0.14 % of DM, and it declined to 0.58 ± 0.18 % of DM at the end of the experiment in the mass remaining. Similarly to the dynamics of the C content, the remaining N content at the end of the experiment did not differ between polluted and control sub-sites. The zero value was excluded from the confidence area of mean effect size coefficients for both FB (-0.026 to 0.127) and CB (-0.111 to 0.128) (Figure 3.5.c). Again, the naturally polluted sub-site E had the lowest coefficient for CB with a value of -0.595.

The C:N molar ratio in the litter significantly decreased during the decomposition process from 60 ± 7 to 32 ± 7 for all sites and both mesh sizes (time effect : $F_{2,260} = 83.69$; $P < 0.001$). The mesh size of the litter bags also affected the C:N ratio in the final litter (mesh size effect : $F_{1,260} = 13.60$; $P < 0.001$), but the contribution of fauna (CB) to the final C:N ratio in litters depended of the site. For example, for both sub-sites at G, fauna induced a decrease in C:N ratio of the litter ($C:N \text{ ratio}_{\text{coarse}} < C:N \text{ ratio}_{\text{fine}}$) whereas the opposite result was observed for

site H. The mean effect size based on C:N ratio was significantly lower than zero for coarse mesh size with -0.16, but not for fine mesh size (Figure 3.5.d.). In CB, the lowest effect size coefficients were measured at sites A, B and D, those with the highest pollution scores. In contrast, higher coefficients were measured in the naturally polluted site E for both FB (0.046) and CB (0.131)

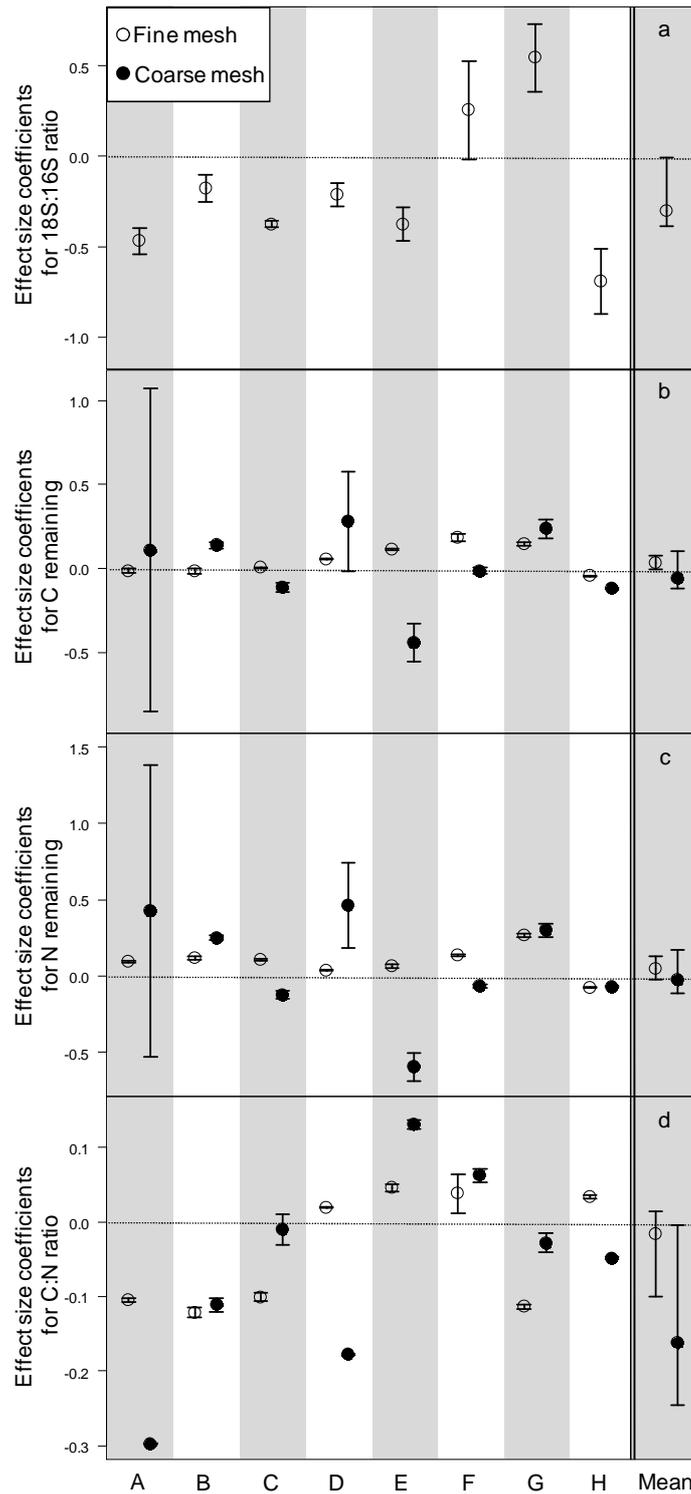


Figure 3.5 Effect of pollution on litter elemental composition and microorganism community structure. Plots show effect size coefficients for remaining leaf litter at day 277 between polluted and control sub-sites for each site for C remaining (a), N remaining (b), C:N ratio (c), and for the 18S:16S ratio of these litters (d). Effect size coefficients were separately calculated for coarse mesh size (empty symbols) and fine mesh size (filled symbols). For each site and mesh size, a mean effect size (Mean)

was calculated with 95 % confidence area calculated by bootstrap. A positive mean effect size coefficient indicates that the value measured on the polluted sub-site was higher than the one on the control site. A significant difference between polluted and control sub-sites was found when the confidence area did not include the zero value.

Discussion

Litter decomposition at polluted sites

Despite a strong variability of environmental characteristics measured, environmental PCA and pollution PCA underlined that at each site polluted and control sub-sites differed from each other only by pollutant contents. In CB, which allowed access of both fauna and microorganisms, the leaf litter decomposition rate did not differ between paired polluted and control sub-sites of all sites. The variability of the observed decomposition rate was stronger between sites than between polluted and non-polluted sub-sites. These results show that despite a strong gradient of soil pollution between sites, leaf litter decomposition was not affected by soil pollution or by other anthropogenic changes observed in our polluted sub-sites. This result contradicts previous studies, which had shown that the rate of leaf litter decomposition was lower in soils polluted by metals than in paired control sites (McEnroe & Helmisaari, 2001; Johnson & Hale, 2004). In these works, the studied sites were not brownfields but sites polluted by atmospheric deposition. Contrary to these studies, we took into account other specific soil characteristics of brownfields. Recently, we showed for one brownfield that the decomposition rate was not affected by anthropisation and associated pollution (Lucisine et al., 2015). Our current work allows us to generalize the absence of a direct effect of pollution on litter decomposition. Furthermore, other soil characteristics specific of brownfields do not seem to influence litter decomposition.

Detritivore contribution to the process

Detritivores are known to increase leaf litter decomposition rate through the consumption of litter and resulting fragmentation (Aerts, 1997). This fragmentation increases the litter area to volume ratio, which allows a higher colonization by microorganisms (Dungait et al., 2012). The contribution of detritivores to the litter decomposition rate was observed at all sites except F and H, with higher decomposition rates in CB than in FB.

Many effects of pollution were observed on detritivores, which lead to disturbances of their community structure, and resulting litter decomposition rates (Cragg & Bardgett, 2001; Vos et al., 2011). Our results show that soil pollution in highly polluted brownfields did not induce an impairment on the contribution of soil fauna in litter decomposition. This could be explained by a lack of pollution effects on the detritivore community structure in our sites, or that detritivore contribution to the decomposition do not depends of their community structure. Recent results (Lucisine et al., 2015) showed for site A an effect of the pollution on the detritivore community structure. We assume that such effects of pollution exist in other sites of the present study. Thus, detritivore activity was maintained despite possible effects of pollution on the detritivore community structure. We expect that some key stone species remain in polluted sub-sites and assure detritivore contribution to the decomposition process (Cragg & Bardgett, 2001).

Even if we did not observe any effect of soil pollution on the contribution of detritivores to the decomposition rate, we observed some difference between paired sub-sites. We assume that this difference might result from specific soil characteristics. For example, the abundance of detritivorous earthworms depends on soil particle size and the proportion between clay and other soil particles (Lavelle, 1988; Curry, 2004). The very low particle size observed in the polluted sub-site A could explain the strong difference in the fauna contribution between polluted and control sub-site. In agroecosystems, nitrogen supply induced an increase in

abundance of several functional groups of fauna (Sohlenius, 1990). The highest N soil content observed in all sites was the one from the polluted sub-site D (10.9 g kg^{-1}). We assume that this high content could increase fauna activity and explain the strong difference in fauna contribution observed.

Effect of soil pollution on microorganism abundances

For most of other studies in terrestrial environments, effect of pollution was studied on microbial communities of the soil. In terrestrial environments, pollution effect on litter colonization by microorganisms has been poorly studied. In aquatic environments, pollution is known to affect litter colonization. For example, Duarte et al. (2008) showed that Zn and Cu pollution induced a lower bacterial colonization but did not affect the fungal one. Even if fungal and bacterial litter colonization are strongly different between terrestrial and aquatic environment (Gessner et al., 2010), we could expect that pollution might also induced changes in microbial colonization of our litter. Here we studied microbial communities, which colonized the litter to measure effects of soil pollution on both microbial community structure and their colorization of leaf litter.

We observed a clear effect of pollution on the microorganism community structure with generally an increase of the relative abundance of bacteria compared to fungi on litter from polluted sub-sites. Furthermore, the higher the pollution score of the polluted site, the higher seemed to be the difference between bacterial and fungal abundances. Such effects of soil pollution were already observed, with a negative or positive effect of soil pollution on bacterial and fungal abundance in soil, depending of the quality and the quantity of pollutant (Baath, 1989; Brandt et al., 2006). Among all sites studied, only the G one showed a higher abundance of fungi than bacteria on litter from the polluted sub-site. We assume that this result could be linked to the arsenic mono-pollution. Effectively, fungi and some bacteria are

tolerant to arsenic pollution while other bacterial groups may show strong decreases (Lorenz et al., 2006). This selective effect of As on microbial communities could explain that the G site was the only site where a positive effect size was observed

Effect of soil pollution on microorganism activities: consequence for the litter quality

Observed changes in microbial community structure could lead to disturbed microbial activities and among them some activities linked to the decomposition process as N-mineralization (Van Beelen & Doelman, 1997; Andreoni et al., 2004). Such an effect was already observed in soil polluted by trace metal elements, with an increase in nitrogen mineralization (Khan & Scullion, 2002). In our study, effect size on 277 days old litter and N litter content did not show any effect of the pollution on the N-mineralization activity. Whatever, a slightly higher N content in final litter from polluted sub-sites lead to a significantly lower C/N ratio. N dynamics in litter are generally characterized by 3 stages: an early leaching, an immobilization by microorganisms followed by a release (Swift et al., 1979; Berg & Staaf, 1987; Berg & McLaugherty, 2003). Our design did not allow us to detect initial leaching but N dynamics showed that differences between polluted and control sites appeared at an later stage. We assumed that this result could be explained by a higher immobilization of nitrogen in polluted sites. Furthermore this hypothesis could be confirmed by the higher bacterial community size on the litter from polluted sites. The C/N ratio is negatively correlated to the decomposition rate (Aerts, 1997; Qualls & Richardson, 2000; Agren et al., 2001; Güsewell & Verhoeven, 2006). Even if nitrogen could be immobilized in the short term at polluted site, it could result in a higher decomposition rate in the long term.

Conclusion

The main objective of this work was to evaluate the effect of soil pollution and other associated soil characteristics observed on brownfield, on leaf litter decomposition using a standardized leaf litter material. We selected eight polluted sites to take into account a gradient of pollution intensity. Our study showed that soil pollution did not induce any change in the decomposition rate, irrespective of the mesh size and thus involved decomposer communities involved. Despite maintenance of the decomposition process, microbial communities showed changes in their structures especially with an increase in the relative abundance of bacteria compared to fungi on litter exposed at polluted sub-sites. Despite effects on the microbial community structure, we did not observed clear effects of soil pollution on microbial activities. Whatever, slight changes in N-immobilization by microorganisms due to pollution and changes in soil characteristics might have led to changes in litter quality during the decomposition process. This result lets us expect some effects of soil pollution on the long term decomposition process.

For a better understanding of the mechanisms involved in the maintenance of the leaf litter decomposition at polluted site, more attention should be paid on soil microbial community structure in the soil and its role for litter decomposition. Microbial and detritivore communities and their activity have already been used as bio-indicators to assess effects of soil pollution in different ecosystems. Our work underlines that measuring leaf litter decomposition rate in polluted sites may provide additional information for the evaluation of pollution effects at the ecosystem level.

Acknowledgment

This study was supported by the « Agence De l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie » (ADEME - Grant number: 1172C0040), and the « Observatoire Terre Environnement Lorraine » (OteLo - Grant number: L01648/PROJET). The authors thank Mélanie Malacarne and Rémi Baldo from the French Scientific Interest Group – Industrial Wasteland (GISFI), Philippe Rouselle and Andréina Nuttens for their technical help. We thank Serge Muller for his vegetation characterization used for sites selection and also, Thierry Beguiristain, Jean Luc Bouchardon, Cyril Conord, Francis Douay, Olivier Faure, and Noële Raoult for their help in the field.

References

- Aerts, R. (1997). Climate, leaf litter chemistry and leaf litter decomposition in terrestrial ecosystems: a triangular relationship. *Oikos*, 439–449.
- Agren, G. I., Bosatta, E., & Magill, A. H. (2001). Combining theory and experiment to understand effects of inorganic nitrogen on litter decomposition. *Oecologia*, 128(1), 94–98.
- Andreoni, V., Cavalca, L., Rao, M. A., Nocerino, G., Bernasconi, S., Dell'Amico, E., Colombo, M., & Gianfreda, L. (2004). Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils. *Chemosphere*, 57(5), 401–412.
- Baath, E. (1989). Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations (a review). *Water, Air, and Soil Pollution*, 47(3-4), 335–379.
- Bachmann, J., Guggenberger, G., Baumgartl, T., Ellerbrock, R. H., Urbanek, E., Goebel, M.-O., Kaiser, K., Horn, R., & Fischer, W. R. (2008). Physical carbon-sequestration

- mechanisms under special consideration of soil wettability. *J. Plant Nutr. Soil Sci*, 171(1), 14–26.
- Berg, B., Berg, M. P., Bottner, P., Box, E., Breymeyer, A., de Anta, R. C., Couteaux, M., Escudero, A., Gallardo, A., Kratz, W., & others. (1993). Litter mass loss rates in pine forests of Europe and Eastern United States: some relationships with climate and litter quality. *Biogeochemistry*, 20(3), 127–159.
- Berg, B., & McClaugherty, C. (2003). Plant litter. *Decomposition, Humus Formation, Carbon Sequestration*. Berlin, DE. © Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Berg, B., & Staaf, H. (1987). Release of nutrients from decomposing white birch leaves and Scots pine needle litter. *Pedobiologia*, 30(1), 55–63.
- Box, J. D. (1983). Investigation of the Folin-Ciocalteu phenol reagent for the determination of polyphenolic substances in natural waters. *Water Research*, 17(5), 511–525.
- Brandt, K. K., Petersen, A., Holm, P. E., & Nybroe, O. (2006). Decreased abundance and diversity of culturable *Pseudomonas* spp. populations with increasing copper exposure in the sugar beet rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, 56(2), 281–291.
- Cadisch, G., & Giller, K. E. (1997). *Driven by nature: plant litter quality and decomposition*. CAB international.
- Cebrian, J. (1999). Patterns in the fate of production in plant communities. *The American Naturalist*, 154(4), 449–468.
- Cébron, A., Norini, M.-P., Beguiristain, T., & Leyval, C. (2008). Real-time PCR quantification of PAH-ring hydroxylating dioxygenase (PAH-RHD α) genes from Gram positive and Gram negative bacteria in soil and sediment samples. *Journal of Microbiological Methods*, 73(2), 148–159.

- Cortet, J., Vauflery, A. G.-D., Poinso-Balaguer, N., Gomot, L., Texier, C., & Cluzeau, D. (1999). The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *European Journal of Soil Biology*, 35(3), 115–134.
- Coughtrey, P. J., Jones, C. H., Martin, M. H., & Shales, S. W. (1979). Litter accumulation in woodlands contaminated by Pb, Zn, Cd and Cu. *Oecologia*, 39(1), 51–60.
- Coûteaux, M.-M., Bottner, P., & Berg, B. (1995). Litter decomposition, climate and litter quality. *Trends in Ecology & Evolution*, 10(2), 63–66.
- Cragg, R. G., & Bardgett, R. D. (2001). How changes in soil faunal diversity and composition within a trophic group influence decomposition processes. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(15), 2073–2081.
- Curry, J. P. (2004). Factors affecting the abundance of earthworms in soils. *Earthworm Ecology*, 91–113.
- De Vaufleury, A., Gimbert, F., & Gomot, L. (2013). *Bioaccumulation, bioamplification des polluants dans la faune terrestre-Un outil pour la biosurveillance des écosystèmes: Un outil pour la biosurveillance des écosystèmes*. EDP sciences.
- Dequiedt, S., Saby, N. P. A., Lelievre, M., Jolivet, C., Thioulouse, J., Toutain, B., Arrouays, D., Bispo, A., Lemanceau, P., & Ranjard, L. (2011). Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management. *Global Ecology and Biogeography*, 20(4), 641–652.
- Dray, S., Dufour, A.-B., & others. (2007). The ade4 package: implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of Statistical Software*, 22(4), 1–20.
- Duarte, S., Pascoal, C., Alves, A., Correia, A., & Cassio, F. (2008). Copper and zinc mixtures induce shifts in microbial communities and reduce leaf litter decomposition in streams. *Freshwater Biology*, 53(1), 91–101.

- Dungait, J. A., Hopkins, D. W., Gregory, A. S., & Whitmore, A. P. (2012). Soil organic matter turnover is governed by accessibility not recalcitrance. *Global Change Biology*, *18*(6), 1781–1796.
- Fai, P. B., Grant, A., & Reid, B. (2007). Chlorophyll a fluorescence as a biomarker for rapid toxicity assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *26*(7), 1520–1531.
- Felske, A., Akkermans, A. D., & De Vos, W. M. (1998). Quantification of 16S rRNAs in complex bacterial communities by multiple competitive reverse transcription-PCR in temperature gradient gel electrophoresis fingerprints. *Applied and Environmental Microbiology*, *64*(11), 4581–4587.
- Gessner, M. O., & Chauvet, E. (2002). A case for using litter breakdown to assess functional stream integrity. *Ecological Applications*, *12*(2), 498–510.
- Gessner, M. O., Swan, C. M., Dang, C. K., McKie, B. G., Bardgett, R. D., Wall, D. H., & Hättenschwiler, S. (2010). Diversity meets decomposition. *Trends in Ecology & Evolution*, *25*(6), 372–380.
- Graça, M. A. S., Bärlocher, F., & Gessner, M. O. (2005). *Methods to study litter decomposition: a practical guide*. Springer.
- Güsewell, S., & Verhoeven, J. T. (2006). Litter N: P ratios indicate whether N or P limits the decomposability of graminoid leaf litter. *Plant and Soil*, *287*(1-2), 131–143.
- Hopkin, S. P., Watson, K., Martin, M. H., & Mould, M. L. (1985). The assimilation of heavy metals by *Lithobius variegatus* and *Glomeris marginata* (Chilopoda; Diplopoda). *Bijdragen Tot De Dierkunde*, *55*(1), 88–94.
- Huot, H., Simonnot, M. O., Marion, P., Yvon, J., De Donato, P., & Morel, J. L. (2013). Characteristics and potential pedogenetic processes of a Technosol developing on iron industry deposits. *Journal of Soils and Sediments*, *3*(13), 555–568.

- Johnson, D., & Hale, B. (2004). White birch (*Betula papyrifera* Marshall) foliar litter decomposition in relation to trace metal atmospheric inputs at metal-contaminated and uncontaminated sites near Sudbury, Ontario and Rouyn-Noranda, Quebec, Canada. *Environmental Pollution*, 127(1), 65–72.
- Khan, M., & Scullion, J. (2002). Effects of metal (Cd, Cu, Ni, Pb or Zn) enrichment of sewage-sludge on soil micro-organisms and their activities. *Applied Soil Ecology*, 20(2), 145–155.
- Köhler, H.-R., Körtje, K.-H., & Alberti, G. (1995). Content, absorption quantities and intracellular storage sites of heavy metals in Diplopoda (Arthropoda). *BioMetals*, 8(1), 37–46.
- Kuka, K., Franko, U., & Rühlmann, J. (2007). Modelling the impact of pore space distribution on carbon turnover. *Ecological Modelling*, 208(2), 295–306.
- Lavelle, P. (1988). Earthworm activities and the soil system. *Biology and Fertility of Soils*, 6(3), 237–251.
- Li, D., Alic, M., Brown, J. A., & Gold, M. H. (1995). Regulation of manganese peroxidase gene transcription by hydrogen peroxide, chemical stress, and molecular oxygen. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(1), 341–345.
- Loranger, G., Ponge, J.-F., Imbert, D., & Lavelle, P. (2002). Leaf decomposition in two semi-evergreen tropical forests: influence of litter quality. *Biology and Fertility of Soils*, 35(4), 247–252.
- Lorenz, N., Hintemann, T., Kramarewa, T., Katayama, A., Yasuta, T., Marschner, P., & Kandeler, E. (2006). Response of microbial activity and microbial community composition in soils to long-term arsenic and cadmium exposure. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(6), 1430–1437.

- Lucisine, P., Lecerf, A., Danger, M., Felten, V., Aran, D., Auclerc, A., Gross, E. M., Huot, H., Morel, J.-L., Muller, S., Nahmani, J., & Maunoury-Danger, F. (2015). Litter chemistry prevails over litter consumers in mediating effects of past steel industry activities on leaf litter decomposition. *Science of The Total Environment*, 537, 213–224.
- Ma, W. (1988). Toxicity of copper to lumbricid earthworms in sandy agricultural soils amended with Cu-enriched organic waste materials. *Ecological Bulletins*, 53–56.
- McEnroe, N. A., & Helmisaari, H.-S. (2001). Decomposition of coniferous forest litter along a heavy metal pollution gradient, south-west Finland. *Environmental Pollution*, 113(1), 11–18.
- METEO-France. (2013). *Cervice Central D'exploitation De La Météorologie*. 42, Avenue Gustave Coriolis. France.
- Moore, J. C., Berlow, E. L., Coleman, D. C., Ruitter, P. C., Dong, Q., Hastings, A., Johnson, N. C., McCann, K. S., Melville, K., Morin, P. J., & others. (2004). Detritus, trophic dynamics and biodiversity. *Ecology Letters*, 7(7), 584–600.
- O'Connell, D. W., Birkinshaw, C., & O'Dwyer, T. F. (2008). Heavy metal adsorbents prepared from the modification of cellulose: A review. *Bioresource Technology*, 99(15), 6709–6724.
- Olson, J. S. (1963). Energy Storage and the Balance of Producers and Decomposers in Ecological Systems. *Ecology*, 44(2), 322–331.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., & Team, R. C. (2012). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models, 2012. *R Package Version*, 3.1–105.
- Qualls, R. G., & Richardson, C. J. (2000). Phosphorus enrichment affects litter decomposition, immobilization, and soil microbial phosphorus in wetland mesocosms. *Soil Science Society of America Journal*, 64(2), 799–808.

- Ranjard, L., Dequiedt, S., Lelievre, M., Maron, P. A., Mougel, C., Morin, F., & Lemanceau, P. (2009). Platform GenoSol: a new tool for conserving and exploring soil microbial diversity. *Environmental Microbiology Reports*, 1(2), 97–99.
- Remon, E., Bouchardon, J.-L., Le Guédard, M., Bessoule, J.-J., Conord, C., & Faure, O. (2013). Are plants useful as accumulation indicators of metal bioavailability? *Environmental Pollution*, 175, 1–7.
- Robertson, S. A., Mason, S. L., Hack, E., & Abbott, G. D. (2008). A comparison of lignin oxidation, enzymatic activity and fungal growth during white-rot decay of wheat straw. *Organic Geochemistry*, 39(8), 945–951.
- Sohlenius, B. (1990). Influence of cropping system and nitrogen input on soil fauna and microorganisms in a Swedish arable soil. *Biology and Fertility of Soils*, 9(2), 168–173.
- Spurgeon, D. J., & Hopkin, S. P. (1999). Tolerance to zinc in populations of the earthworm *Lumbricus rubellus* from uncontaminated and metal-contaminated ecosystems. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 37(3), 332–337.
- Spurgeon, D. J., Svendsen, C., Rimmer, V. R., Hopkin, S. P., & Weeks, J. M. (2000). Relative sensitivity of life-cycle and biomarker responses in four earthworm species exposed to zinc. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(7), 1800–1808.
- Swift, M. J., Heal, O. W., & Anderson, J. M. (1979). *Decomposition in terrestrial ecosystems* (Vol. 5). Univ of California Press.
- Tajovsky, K., Santruckova, H., Hanel, L., Balik, V., & Lukesova, A. (1992). Decomposition of faecal pellets of the millipede *Glomeris hexasticha* (Diplopoda) in forest soil. *Pedobiologia*, 36(3), 146–158.
- Van Beelen, P., & Doelman, P. (1997). Significance and application of microbial toxicity tests in assessing ecotoxicological risks of contaminants in soil and sediment. *Chemosphere*, 34(3), 455–499.

- Visioli, G., Menta, C., Gardi, C., & Conti, F. D. (2013). Metal toxicity and biodiversity in serpentine soils: Application of bioassay tests and microarthropod index. *Chemosphere*, *90*(3), 1267–1273.
- Vos, V. C., van Ruijven, J., Berg, M. P., Peeters, E. T., & Berendse, F. (2011). Macro-detritivore identity drives leaf litter diversity effects. *Oikos*, *120*(7), 1092–1098.
- Wardle, D. A., Bardgett, R. D., Klironomos, J. N., Setälä, H., Van Der Putten, W. H., & Wall, D. H. (2004). Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, *304*(5677), 1629–1633.

Appendix 1:

Initial litter characteristics

In autumn 2012, we collected freshly abscised birch leaves (*B. pendula*) at a site known to be unpolluted. For this purpose, nylon nettings were exposed around trees 1.5 m above the ground to intercept falling leaf litter. Leaf litter was air-dried and stored in the laboratory at room temperature. Petioles were removed from leaves, and leaf litter was characterized by measuring toughness, phenolic compounds, lignin and C, N and P contents. Leaf toughness was measured with rewetted leaves using a penetrometer and was expressed as Newton per millimeter square (Graça et al., 2005). Chemical analyses were performed on finely ground litter material (< 1 mm). Phenolic compounds were extracted in 70% of aqueous methanol for 2h. Phenolic compounds content was determined using the Folin-Ciocalteu spectrophotometric method based on the protocol described in (Box, 1983) using tannic acid as standard. Absorbance was corrected for non-phenolic compound interfering with the Folin-reagent based on the precipitation of phenolics with polyvinyl polypyrrolidone (Sigma-Aldrich, P6755; CAS number 9003-39-8). Lignin content of leaf litter was determined gravimetrically using acid-detergent fibre method (Loranger et al., 2002). Contents of C and N were determined using a Carlo-Erba NA 2100 analyzer. Phosphorus was extracted and mineralized in 1 M sodium hydroxide and 0.5 M sodium persulfate at 120°C and 1 bar during 2 h. Spectrophotometric quantification was done following the AFNOR norm (1990) by using automaton (Konelab 420-XTi, 169 Thermofischer).

The following table describe results from analyses conducted on the initial leaf litter (Table 3.2).

Table 3.2 Mean initial properties of the litter used in the experiment (SE)

Initial litter properties	
Carbon (%)	46.5 (0.1)
Phosphorus (%)	0.33 (0.02)
Nitrogen (%)	0.73 (0.01)
Lignine(%)	14.7 (0.4)
Toughness (N/m ²)	8229 (931)

Appendix 2:

Detailed properties of experimental sites

Table 3.3 Detailed properties of experimental polluted sub-sites (P) and un-polluted sub-sites (U)

	A		B		C		D		E		F		G		H	
	P	U	P	U	P	U	P	U	P	U	P	U	P	U	P	U
Sites properties																
Coordinates																
Latitude	48°46'10.7"N	48°45.3'N	46°32.3'N	46°32.4'N	43°59'19"N	43°56.2'N	50°29'39"N	50°30'15.2"N	48°03'35"N	48°02'28"N	49°12'8.7"N	49°12'38"N	43°20'13"N	43°20.3'N	44°06.3'N	44°59'00"N
Longitude	6°31'41"E	6°34.5"E	4°38'6.6"E	4°40'0.4"E	3°39'20"E	3°40'3.3"E	3°15'9.4"E	3°56'20"E	6°39'29.2"E	6°40'1.4"E	5°59'7.5"E	5°59'22"E	2°20'10.5"E	2°20'0.4"E	3°59.5"E	4°04'11"E
Climate																
Mean precip. (mm)	576	-	683	-	910	-	1296	-	746	-	779	-	1199	-	549	-
Mean temp. (°C)	11.0	-	13.8	-	14.1	-	8.5	-	11.3	-	10.4	-	14.3	-	12.3	-
Mean PET (mm)	2.5	-	3.4	-	3.3	-	2.0	-	2.4	-	2.2	-	3.8	-	2.9	-
Altitude (m)	198	200	227	200	190	185	16	57	688	537	230	229	329	365	252	274
General properties																
pH	7.4	6.7	4.3	5.2	7.5	7.7	4.6	3.9	7.9	7.5	8.0	7.9	4.8	5.0	7.8	5.9
Granulo Id. (mm)	51.3	126.1	610.2	222.9	200.3	192.2	328.2	371.5	135.1	528.8	757.5	525.2	357.8	260.7	839.6	327.4
CEC (Cmol ⁺ kg ⁻¹)	37.1	16.3	6.1	10.7	17.5	65.9	9.4	22.5	64.1	23.8	10.8	16.4	13.5	6.8	17.9	12.2
Total C (g kg ⁻¹)	78.4	35.1	44.4	42.3	107.0	181.0	80.7	289.0	143.0	46.6	205.0	84.4	134.0	45.0	132.0	29.7
Organic C (g kg ⁻¹)	70.9	35.7	42.5	40.4	49.7	161.0	80.0	302.0	115.0	46.3	114.0	36.8	128.0	44.1	64.5	27.6
Organic mat. (g kg ⁻¹)	123.0	61.7	73.5	69.8	85.9	279.0	138.0	522.0	200.0	80.1	197.0	63.7	222.0	76.3	112.0	47.7
N (g kg ⁻¹)	5.2	2.4	2.5	3.0	4.3	9.1	4.4	10.9	7.6	3.5	3.6	2.2	3.3	1.5	4.7	2.4
P (g kg ⁻¹)	0.07	0.12	0.11	0.03	0.01	0.05	0.03	0.03	0.09	0.07	0.02	0.09	0.01	0.01	0.02	0.01

Table 3.4 Detailed pollution of experimental polluted sub-sites (P) and un-polluted sub-sites (U)

Metal pollutants (mg kg ⁻¹)	A		B		C		D		E		F		G		H	
	P	U	P	U	P	U	P	U	P	U	P	U	P	U	P	U
Sb	82.8	1.2	12.9	2.4	198.0	6.9	40.1	1.2	1.8	2.7	2.1	1.5	6.4	3.3	14.2	3.1
Cr	205.0	36.7	1190.0	75.6	39.1	59.4	58.8	49.2	1030.0	19.5	170.0	53.1	68.8	64.0	33.4	56.6
Cu	106.0	12.0	470.0	32.6	63.6	28.3	89.1	12.8	5.5	6.7	47.5	53.4	58.7	61.4	15.9	15.0
Ni	83.7	15.9	606.0	35.5	30.1	39.5	24.0	16.5	236.0	9.0	26.3	29.1	17.9	32.3	10.9	27.6
Zn	21600.0	124.0	1550.0	113.0	39300.0	941.0	2580.0	126.0	108.0	155.0	332.0	387.0	60.7	100.0	111.0	49.6
Co	15.0	6.1	41.4	17.3	7.6	11.6	8.9	6.7	48.8	1.4	10.2	12.0	6.6	10.7	7.1	4.8
Pb	21400.0	58.7	1270.0	43.6	12000.0	280.0	3530.0	56.2	65.5	124.0	284.0	121.0	92.5	40.9	864.0	61.0
Cd	75.1	0.3	7.9	0.2	281.0	5.3	46.3	1.8	0.3	1.0	1.3	0.5	0.2	0.4	0.3	0.2
Tl	66.3	1.4	0.3	0.8	10.6	3.6	1.6	0.4	1.1	0.7	0.3	0.5	0.8	0.9	1.8	3.5
Mo	12.3	0.5	252.0	1.1	1.6	1.3	1.0	0.5	0.6	0.8	9.7	1.6	1.6	2.2	1.4	1.5
As	62.9	21.0	64.3	41.1	328.0	30.9	38.9	7.0	31.7	13.4	56.3	39.8	1950.0	144.0	222.0	39.9
Organic pollutants (mg kg⁻¹)																
Naphthalene	0.53	0.02	0.66	0.05	0.04	0.04	0.08	0.02	0.02	0.08	4.54	1.38	0.03	0.02	0.06	0.00
Acenaphthene	0.04	0.01	0.40	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	40.30	0.56	0.01	0.01	0.01	0.02
Fluorene	0.06	0.01	0.40	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.08	25.90	1.00	0.01	0.01	0.06	0.02
Phenanthrene	1.43	0.06	2.91	0.12	0.12	0.05	0.25	0.06	0.05	0.22	44.40	8.25	0.14	0.02	0.07	0.12
Anthracene	0.13	0.01	0.58	0.01	0.01	0.01	0.03	0.01	0.01	0.01	12.50	2.10	0.01	0.01	0.01	0.01
Fluoranthene	1.73	0.12	3.68	0.13	0.16	0.04	0.32	0.08	0.10	0.41	28.20	12.90	0.22	0.02	0.09	0.13
Pyrene	1.03	0.08	2.66	0.09	0.10	0.03	0.22	0.06	0.06	0.25	16.60	9.13	0.15	0.01	0.06	0.09
Benzo(a)anthracene	0.60	0.05	1.46	0.06	0.06	0.01	0.17	0.04	0.02	0.10	8.21	5.68	0.07	0.01	0.03	0.05
Chrysene	1.49	0.09	2.38	0.14	0.17	0.05	0.35	0.09	0.08	0.42	13.10	8.30	0.15	0.05	0.06	0.10
Benzo(b)fluoranthene	1.47	0.07	1.65	0.09	0.18	0.03	0.26	0.07	0.11	0.47	4.62	5.47	0.01	0.02	0.04	0.07
Benzo(k)fluoranthene	0.60	0.03	0.83	0.04	0.06	0.01	0.10	0.03	0.02	0.13	2.61	2.84	0.04	0.01	0.02	0.03
Benzo(a)pyrene	0.38	0.06	1.41	0.06	0.07	0.01	0.17	0.05	0.03	0.12	3.86	4.89	0.05	0.01	0.04	0.05
Benzo(a)pyrene Benzo(a)pyrene	0.04	0.02	0.02	0.02	0.04	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.48	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Benzo(ghi)perylene	1.79	0.05	1.08	0.06	0.07	0.05	0.17	0.05	0.05	0.13	1.36	3.15	0.05	0.05	0.05	0.05
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	1.60	0.04	0.95	0.05	0.11	0.06	0.13	0.04	0.03	0.19	5.10	3.28	0.05	0.01	0.04	0.04
Acenaphthylene	0.06	0.03	0.35	0.04	0.07	0.03	0.06	0.03	0.03	0.03	1.99	0.51	0.03	0.03	0.03	0.08
Total PAH	12.9	0.7	21.4	1.0	0.8	0.3	2.3	0.5	0.5	2.7	213.8	51.7	0.9	0.1	0.6	0.8

Appendix 3:

Carbon and nitrogen dynamics during the decomposition process

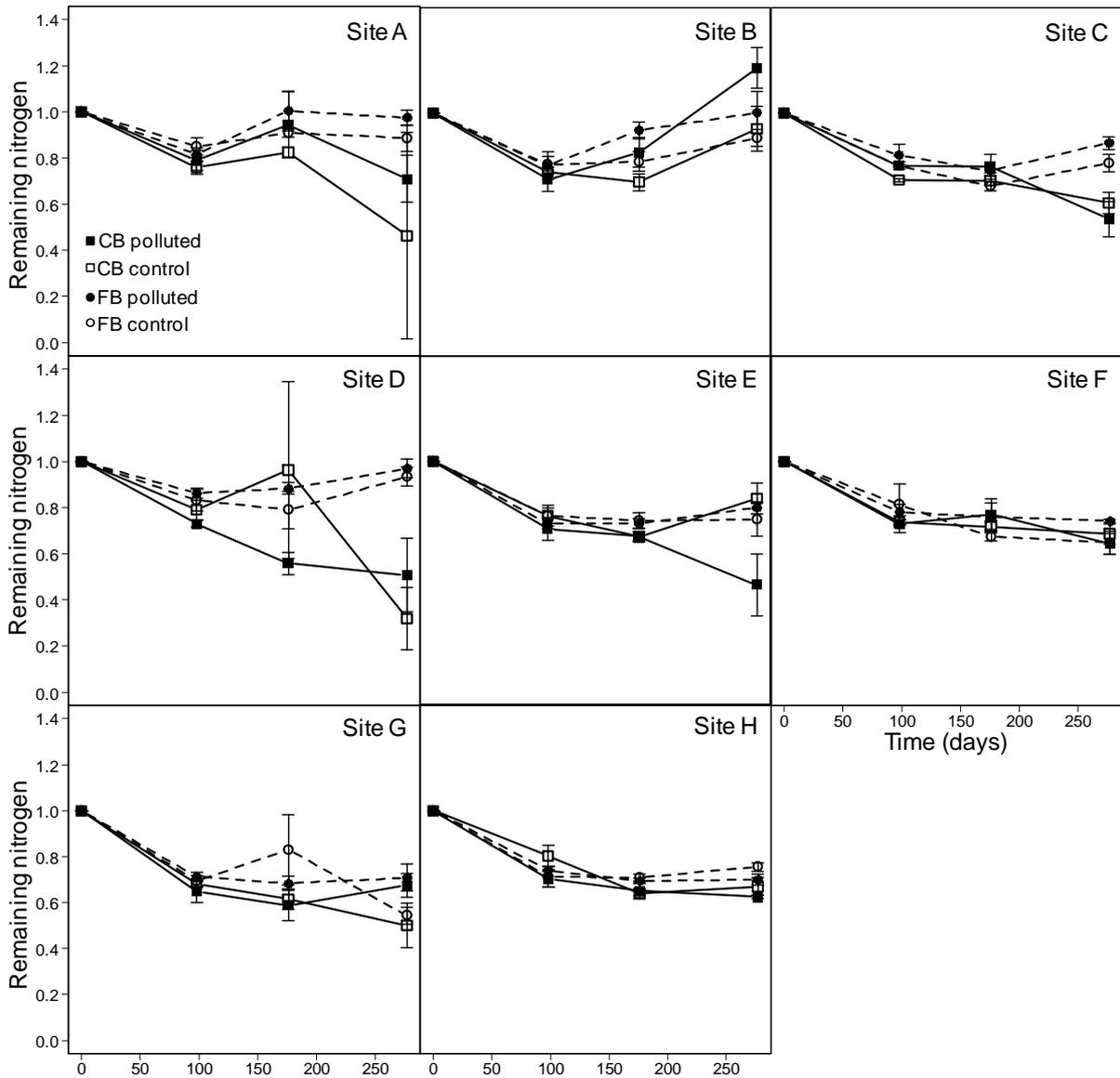


Figure 3.6 Site-specific differences in litter nitrogen remaining mass between polluted and control sub-sites, for coarse and fine mesh litter bags (CB, FB). The main panels show changes over time for the proportion of litter nitrogen remaining mass based on initial mass in CB (solid lines and square symbols) and FB (hatched lines and circle symbols) by sub-site of litter exposure (filled symbols = polluted sub-sites; empty symbols = control sub-sites). Data show means +/-standard errors.

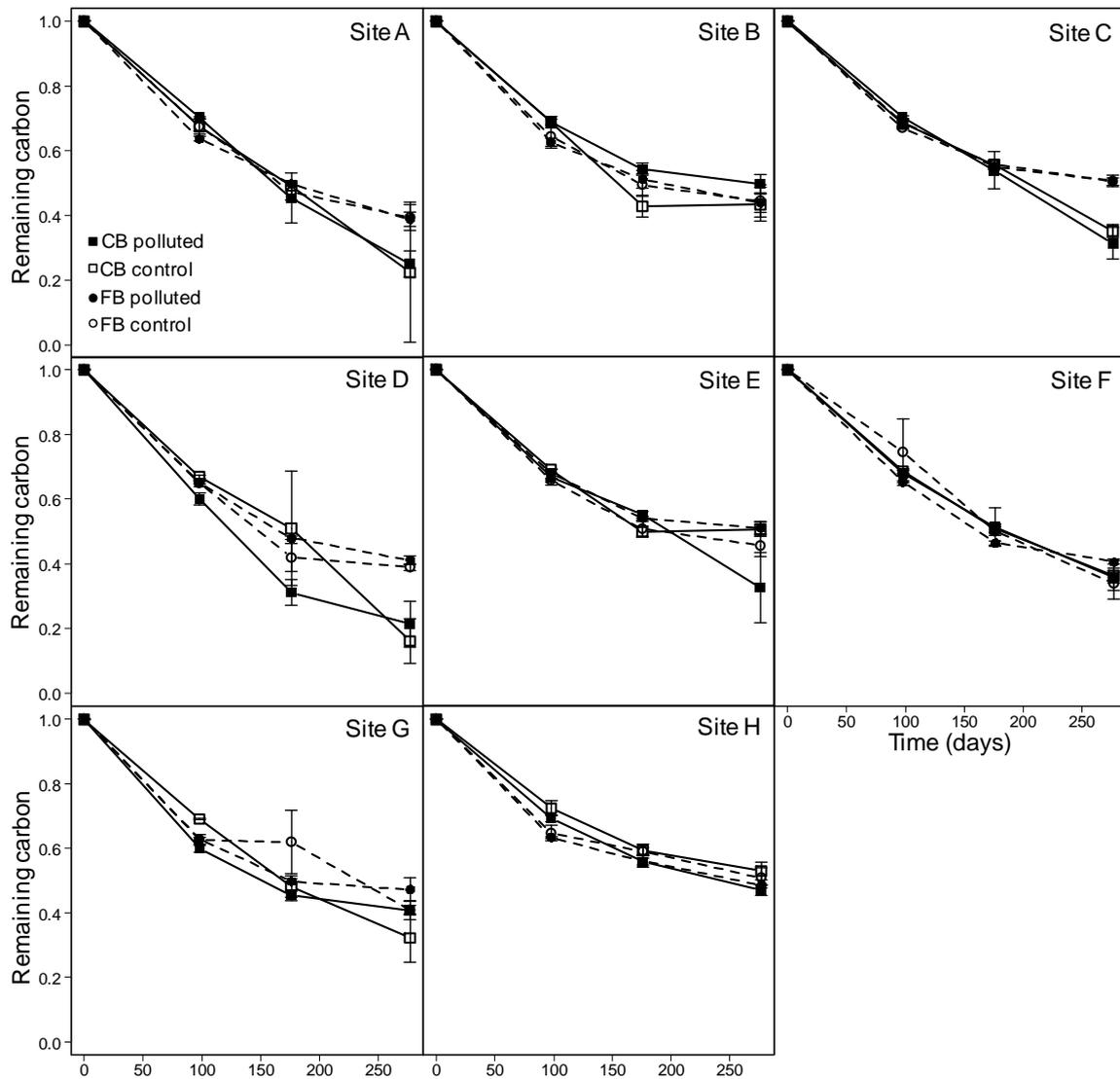


Figure 3.7 Site-specific differences in litter carbon remaining mass between polluted and control sub-sites, for coarse and fine mesh litter bags (CB, FB). The main panels show changes over time for the proportion of litter carbon remaining mass based on initial mass in CB (solid lines and square symbols) and FB (hatched lines and circle symbols) by sub-site of litter exposure (filled symbols = polluted sub-sites; empty symbols = control sub-sites). Data show means +/-standard errors.

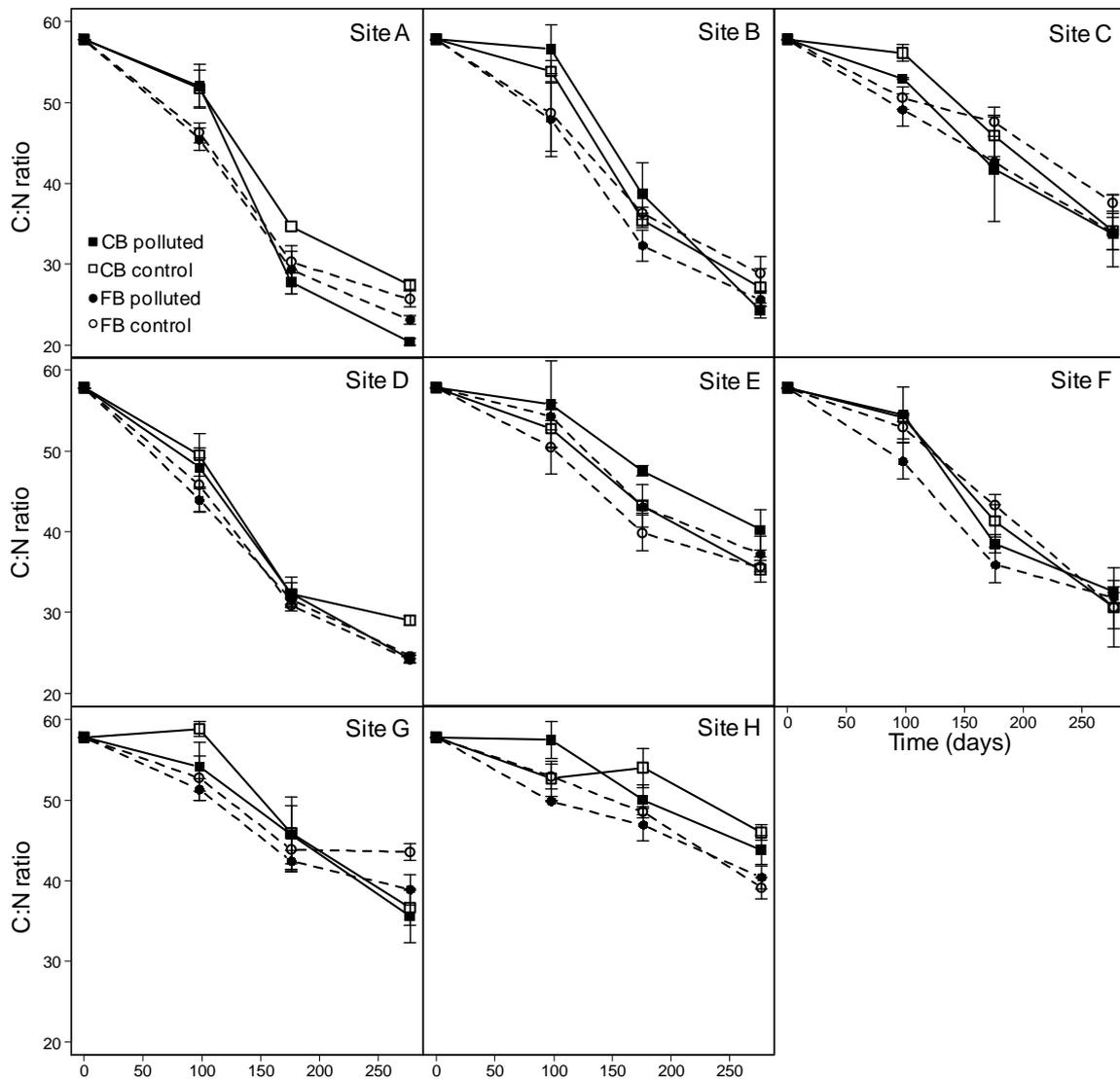


Figure 3.8 Site-specific differences in litter C:N ratio dynamic between polluted and control sub-sites, for coarse and fine mesh litter bags (CB, FB). The main panels show changes over time for the C:N ratio in CB (solid lines and square symbols) and FB (hatched lines and circle symbols) by sub-site of litter exposure (filled symbols = polluted sub-sites; empty symbols = control sub-sites). Data show means +/-standard errors.

Table 3.5 Summary of mixed-effects models assessing main and interactive effects of the site of litter exposure, the litter bag mesh size, and time on litter carbon and nitrogen mass remaining and on the

C:N ratio in leaf litter. Plot was specified as a random factor to take into account repeated measurements on the same plot. In all linear mixed effects models, time was set as a factor to detect potential non-linear changes through time. Significant effects are highlighted in bold. Abbreviations:

df = degree of freedom of the variable, degree of freedom of residuals.

mixed-effects models results									
	Carbon remaining			Nitrogen remaining			C:N ratio		
	df	F	P	df	F	P	df	F	P
Polluted vs unpolluted sites (a)	1,256	0.001	0.98	1,258	0.003	0.95	1,260	0.520	0.47
Time of exposure in the field (b)	2,256	83.34	<.001	2,258	1.829	0.16	2,260	83.69	<.001
Mesh size (c)	1,256	2.854	0.09	1,258	2.263	0.13	1,260	13.60	<.001
Interactions									
a x b	2,256	0.384	0.68	2,258	0.995	0.37	2,260	0.192	0.83
a x c	1,256	2.793	0.10	1,258	0.274	0.60	1,260	0.399	0.53
b x c	2,256	7.032	<.001	2,258	2.740	0.07	2,260	3.115	0.05
a x b x c	2,256	0.486	0.62	2,258	0.515	0.60	2,260	0.093	0.91

Chapitre III

*Gestion des ETM dans les litières de feuilles
de trois espèces d'arbres*



Préambule

Dans le chapitre I, nous avons mis en évidence l'existence d'un effet indirect de la pollution des sols sur les processus de la décomposition de la litière via des modifications de la qualité de la litière (*i.e.* diminution de la teneur en lignine). En plus d'avoir une meilleure qualité, les litières de *Populus tremula* étaient également caractérisées par de fortes teneurs en ETM, notamment en Cd et en Zn. Ces ETM sont également susceptibles d'affecter, le plus probablement négativement, les acteurs de la décomposition par voie trophique. La compréhension de l'effet indirect nécessite donc de définir les mécanismes pouvant affecter les teneurs en ETM des litières. Pour que les ETM soient présents dans leur litière, les végétaux doivent donc à la fois accumuler ces polluants dans leurs feuilles mais également maintenir, voire augmenter leurs teneurs lors de la sénescence des feuilles aboutissant à la formation de la litière. L'objectif de ce chapitre a été d'étudier sur les mêmes sites expérimentaux que ceux utilisés dans le chapitre I et pour trois espèces d'arbres, *Quercus petraea* (Maat.), *Alnus glutinosa* (L.) et *Betula alba* (L.) la stratégie de gestion des ETM dans les litières. En particulier, nous avons supposé que cette gestion pouvait être (1) une réassimilation des ETM lors de la sénescence des feuilles ou (2) une absence de réassimilation. La conséquence de cette seconde option sera une contribution plus forte de la présence des ETM des litières dans l'effet indirect. Par ailleurs, l'expérimentation que nous avons réalisé dans ce but représentait également l'opportunité de vérifier si pour les trois espèces végétales étudiées, l'effet positif de la pollution du sol sur la qualité de la litière observé pour *Populus tremula* (Chapitre I) était généralisable à d'autres espèces.

Manuscrit d'article : Stratégie de gestion des ETM dans les litières de feuilles par trois espèces végétales.

En préparation

Résumé

Les polluants du sol, dont les éléments traces métalliques, ont un effet délétère sur les arbres qui se développent sur ces sols, et en particulier sur leurs feuilles, constituant, avec les litières qu'elles forment, un flux majeur d'énergie et de nutriments dans l'écosystème. L'effet subi par les feuilles pourrait induire une modification des propriétés définissant la qualité des feuilles et de la litière qu'elles formeront (*i.e.* teneur en nutriments, en lignine ou en composés phénoliques). La gestion des ETM contenus dans les feuilles lors de la sénescence va définir la quantité de ces polluants contenue dans la litière et donc l'effet qu'auront ces polluants sur les consommateurs : les acteurs de la décomposition. Dans ce travail, nous avons émis l'hypothèse que les arbres pouvaient avoir deux stratégies de gestion des ETM de leur litière. (1) Lors de la sénescence des feuilles, une réassimilation des ETM pourrait avoir lieu comme c'est le cas pour les nutriments. (2) Les végétaux ne réassimilent pas les ETM de leurs feuilles, ce qui a pour conséquence des effets délétères importants, par voie trophique, sur les consommateurs de ces litières. Afin de déterminer la stratégie de gestion des ETM par les végétaux, nous avons réalisé le suivi des teneurs en ETM des feuilles de trois espèces végétales, *Quercus petraea* (Maat.), *Alnus glutinosa* (L.) et *Betula alba* (L.), jusqu'au stade de litière. Nos travaux ont montré que lorsque les ETM étaient retrouvés dans les feuilles, aucune réassimilation de ces derniers n'avait lieu. Par ailleurs, nous avons observé que la pollution des sols induisait d'importantes modifications de la qualité des feuilles et des litières, avec notamment des teneurs plus grandes en azote et plus faibles en composés

phénoliques. La conséquence de ces résultats est que la pollution en ETM des sols, via les végétaux, peut affecter les herbivores, les détritivores et les microorganismes décomposeurs, à la fois par de fortes teneurs en ETM dans la ressource qu'ils consomment et également par une modification de la qualité de la ressource. Ces deux effets combinés sur les acteurs de la décomposition de la litière suggèrent également des conséquences sur le fonctionnement des écosystèmes présents sur les friches industrielles.

Introduction

Les friches industrielles

En France, la pollution des sols par les éléments traces métalliques (ETM) est un enjeu majeur, avec plus de 2600 sites suivis par le ministère de l'écologie, du développement durable et de l'énergie (base de données Basol, 2015). Les ETM les plus représentés dans des cas avérés de pollution du sol sont l'arsenic, le cadmium, le chrome, le cuivre, le mercure, le nickel, le plomb et le zinc et proviennent principalement des activités métallurgiques et minières (O'Connell et al., 2008). L'arrêt de la majorité de ces activités a laissé de nombreuses friches industrielles multi-polluées dont la gestion est une problématique majeure. En plus de fortes teneurs en polluants, la forte anthropisation de ces sites s'est également traduite par une modification de nombreuses autres propriétés physico-chimiques de leurs sols, telles que la structure physique, le pH ou encore la teneur en nutriments (Huot, 2013). Malgré les effets délétères des polluants, certains de ces sites sont caractérisés par une forte colonisation par la faune et la flore.

Effets des ETM sur les végétaux

Parmi l'ensemble des ETM, certains comme le cuivre ou le zinc sont essentiels pour le développement de la plante. Ainsi, une concentration minimale en ces ETM est nécessaire pour leur développement. Quoi qu'il en soit, au-delà d'une certaine concentration dans la plante, ces ETM, tout comme ceux non essentiels pour le développement de la plante, induiront des effets délétères sur ces organismes. Ces effets des ETM sur les végétaux sont multiples et se traduisent généralement par une diminution de la croissance racinaire (Lambers et al., 2008), une diminution de l'activité photosynthétique, ainsi que des dommages oxydatifs majeurs qui se traduisent par une diminution de la croissance ou la mort de l'individu ((Durand et al., 2010; Gallego et al., 2012). Afin de palier à ces effets délétères, les végétaux ont développé de nombreux mécanismes de résistance. Ces mécanismes se répartissent en deux groupes majoritaires : 1) l'exclusion ou la limitation de l'entrée du polluant dans l'organisme et 2) l'ensemble des processus de tolérance (Lambers et al., 2008). Ce second groupe concerne l'ensemble des mécanismes permettant de limiter la toxicité du polluant une fois que ce dernier se trouve au sein de l'organisme. Parmi ces mécanismes se trouve la complexation en forme moins toxique par les agents chélatants tel que l'acide citrique ou malique (Ma et al., 2001; Yang et al., 2005; Donascimento et al., 2006) et également les tanins (McDonald et al., 1996; Hagerman et al., 1998; Barbehenn & Constabel, 2011). Les ETM peuvent aussi être séquestrés dans les parois et les vacuoles où leur pouvoir toxique est amoindri, d'autant plus si ces derniers sont déjà complexés (Eapen & D'Souza, 2005; Yang et al., 2005). En plus de ces mécanismes de résistance, des barrières aux flux des métaux sont présentes dans les plantes. La plus importante est l'endoderme racinaire. En effet, la forte subérisation des parois de ces cellules oblige le flux d'eau et d'éléments à passer par voie apoplasmique (Taiz & Zeiger, 2006) et empêche le passage de certains ETM (plomb, cuivre, ou dans une moindre mesure le zinc) dans les parties aériennes (Weis & Weis, 2004).

Ainsi, dépendamment des mécanismes de résistance développés par la plante et des métaux concernés, la séquestration des ETM peut être réalisée dans les racines, le bois ou encore les feuilles (Dahmani-Muller et al., 2000; Van Belleghem et al., 2007; Lambers et al., 2008). Une fois dans les feuilles, les ETM se retrouveront dans la litière qu'elles formeront. Toutefois, la relation entre les teneurs en ETM des feuilles et de la litière reste peu étudiée.

Effets des ETM sur la qualité de la litière

Parmi l'ensemble des paramètres physicochimiques des feuilles et des litières, certains vont influencer les herbivores en définissant la palatabilité, et également influencer les acteurs de la décomposition en définissant la décomposabilité, c'est-à-dire la vitesse de décomposition potentielle de la litière (Cadisch et Miller, 1997 ; Coûteaux et al., 1995). On parle alors de paramètres de la qualité. Ainsi, les feuilles et la litière seront de meilleure qualité si leurs teneurs en azote et phosphore sont élevées, du fait du caractère limitant de ces deux éléments pour la faune et les microorganismes (Aerts, 1997; Qualls & Richardson, 2000; Agren et al., 2001; Güsewell & Verhoeven, 2006). Par ailleurs, la teneur en lignine, forme de carbone particulièrement réfractaire, sera quant à elle inversement corrélée à la qualité de la litière (Meentemeyer, 1978; Hobbie, 2000; Austin & Ballaré, 2010). La même relation a également été observée avec les teneurs en tanins, ces derniers étant impliqués dans la lutte contre l'herbivorie (Hagerman, 2002) et ayant également un effet négatif sur les activités enzymatiques des détritvires (Niehaus & Gross, 1997; Schweitzer et al., 2004). Du fait des effets délétères des ETM, mais également de la mise en place des mécanismes de défense, ces paramètres de qualité peuvent se trouver impactés par la pollution des sols. Il a notamment été montré qu'en présence de métaux, la teneur en composés phénoliques et en particulier en lignine pouvait se trouver augmentée (Kieffer et al., 2008; Elobeid et al., 2012). Cela peut conduire à un effet négatif sur la qualité des feuilles et litières. Par ailleurs, une perturbation

des teneurs en azote et phosphore des feuilles a également été observée, avec notamment une augmentation de la teneur en azote (McEnroe & Helmisaari, 2001). Dans ce cas, l'effet potentiel sur la qualité serait plutôt positif du fait du caractère limitant de l'azote vis-à-vis de la faune et des microorganismes.

Effets des ETM sur les consommateurs de feuilles et de litières

Une séquestration des ETM dans les feuilles et dans la litière qu'elles forment peut avoir un impact sur l'ensemble de l'écosystème du fait de la consommation des feuilles par les herbivores et les acteurs de la décomposition, à savoir la faune détritivore et les microorganismes décomposeurs. En effet, les ETM provoquent également des effets néfastes sur les consommateurs. L'effet délétère de ces polluants sur les herbivores est à l'origine de la théorie de « elemental defense » décrivant l'accumulation de métaux dans les feuilles de certaines espèces végétales comme un système de défense contre l'herbivorie (Rascio & Navari-Izzo, 2011). Parmi les effets néfastes observés chez les détritivores, nous pouvons citer une diminution de la croissance des juvéniles de diplopodes (Hopkin et al., 1985; Köhler et al., 1995), une diminution de la croissance, de la survie et du taux de reproduction des vers de terre (Ma, 1988; Spurgeon & Hopkin, 1999; Spurgeon et al., 2000), ou encore la diminution du taux de reproduction des collemboles (Visioli et al., 2013). Pour ce qui est des effets des ETM sur les microorganismes, cela se traduit par des modifications de la structure des communautés, que ce soit avec des augmentations ou des diminutions des abondances totales ou de la diversité (Baath, 1989; Brandt et al., 2006; Giller et al., 2009).

Objectifs

La présence des ETM dans les feuilles et les litières a pour conséquence des effets délétères sur leurs consommateurs, les herbivores, les détritvires et les microorganismes décomposeurs. L'effet des ETM sur les consommateurs de litière va principalement dépendre de la teneur en ces métaux dans les litières après la sénescence des feuilles. Dans ce travail, nous avons émis l'hypothèse que les arbres pouvaient avoir deux stratégies de gestion des ETM de leur litière. (1) Lors de la sénescence des feuilles, une réassimilation des ETM pourrait avoir lieu comme c'est le cas avec les nutriments. Cette stratégie permettrait de diminuer la quantité de métaux retournant au sol et pouvant de nouveau affecter les plantes après leur réabsorption. (2) Les végétaux ne réassimilent pas les ETM de leurs feuilles, ce qui a pour conséquence de diminuer leur teneur totale en polluants au détriment d'une diffusion de ces derniers dans l'écosystème, avec pour conséquence des effets délétères sur les consommateurs de ces litières. L'objectif principal de cette étude sera donc de déterminer quelle stratégie de gestion des ETM est suivie par 3 espèces végétales couramment trouvées sur les friches industrielles : *Quercus petraea* (Maat.), *Alnus glutinosa* (L.) et *Betula alba* (L.). Par ailleurs, les ETM pourraient entraîner des modifications des paramètres de la qualité des feuilles et des litières du fait de leurs effets délétères sur les végétaux, et également du fait de la mise en place des mécanismes de défense. Cela aurait représenté une seconde voie d'action des ETM sur les consommateurs de ces ressources. L'objectif secondaire de cette étude a donc été d'évaluer l'effet de la pollution du sol en ETM sur la qualité de ces ressources en mesurant les principaux traits de qualité des feuilles et litières (teneurs élémentaires, teneur en lignine et en composés phénoliques totaux).

Matériel et méthodes

Sites d'échantillonnage

Le site d'étude pollué se trouvait au sein d'une aciérie fermée en 1986, située le long de la rivière Moselle, au nord-est de la France (48° 46' 8.13" N, 6° 8' 4.11 E ", 200 mètres d'altitude). Le site pollué correspondait, au sein de l'aciérie, à un bassin de décantation de boues de hauts fourneaux de 2,6 ha ayant été utilisé pendant près d'un siècle. Ce bassin a été rempli avec près de 10 m de boues puis a été laissé sans gestion jusqu'à nos jours. Cela a permis le développement d'une forêt meso-hygrophique dominée par *Populus tremula* L., *Quercus petraea* (Maat.) Liebl., *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn., *Betula alba* L. et *Fraxinus excelsior* L. Le site est caractérisé par un technosol ayant une fine structure, une faible densité, une forte hétérogénéité verticale, et une forte teneur en ETM, particulièrement en cadmium, zinc et plomb (en moyenne, respectivement 106 $\mu\text{g g}^{-1}$, 21100 $\mu\text{g g}^{-1}$ et 24800 $\mu\text{g g}^{-1}$, (Huot et al., 2013). Malgré la forte pollution de ce site, le sol montre une activité pédogénique, mise en évidence par la formation d'un horizon organique d'une dizaine de centimètres (Huot et al., 2013).

Nous avons comparé les échantillons de végétaux prélevés sur ce site pollué (P) avec ceux de 3 sites forestiers non pollués situés également le long de la Moselle, à moins de 30 km du site P. Ces 3 sites ont été respectivement nommés U1, U2 et U3 selon leur distribution le long d'un axe nord sud (Figure 4.1). L'étude pédologique complète des 4 sites d'échantillonnage a été réalisée lors des travaux publiés par Lucisine et al. (2015) et les résultats ont été résumés dans le tableau (Tableau 4.1).

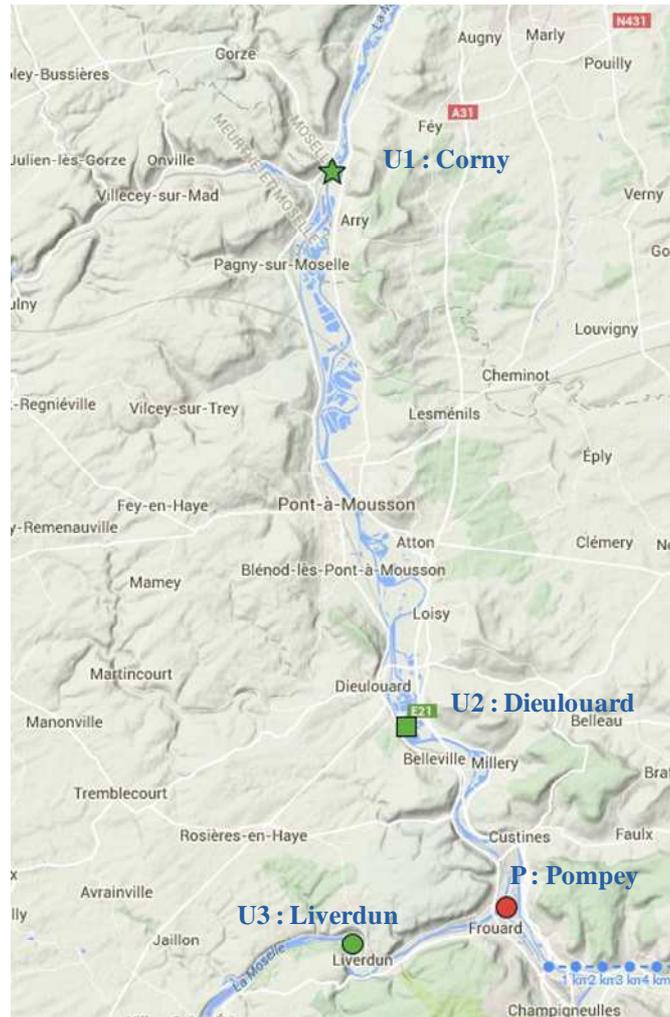


Figure 4.1 Localisation du site pollué (P) et distribution des sites non-pollués (U1, U2 et U3) selon un axe Nord-Sud

Tableau 4.1 Localisation des sites expérimentaux et principales caractéristiques des sols

(valeurs moyennes, n= 3)

Sites propriétés		Mean (SE) values by site			
		Polluted	Unpolluted 1	Unpolluted 2	Unpolluted 3
Coordinates	Latitude	48° 46' 8.13"N	49°00'51.8"N	48°49'44.3"N	48°45'21.3"N
	Longitude	6° 8' 4.11"E	6°02'51.6"E	6°05'02.6"E	6°03'29.0"E
Mean distance to river (m)		62 (3)	11 (3)	51 (8)	15 (2)
Soil					
pH		7.8 (0.1)	6.9 (0.1)	7.6 (0)	7.7 (0.1)
CEC (cmol ⁺ kg ⁻¹)		60.7 (3.7)	18.2 (0.6)	19.8 (0.8)	21 (0.3)
Carbonates (mg g ⁻¹)		90 (23)	5 (0.3)	6 (0)	56 (14)
Organic Carbon (mg g ⁻¹)		146 (16)	29 (2)	33 (3)	33 (1)
Nitrogen (mg g ⁻¹)		9.3 (1.1)	2.8 (0.1)	2.8 (0.2)	3 (0.1)
Phosphorus (mg g ⁻¹)		3.1 (0.1)	0.8 (0)	1.1 (0.1)	0.8 (0.1)
Cadmium (µg g ⁻¹)		73 (8)	< 1	< 1	< 1
Lead (µg g ⁻¹)		15,560 (2,209)	17 (1)	66 (13)	35 (4)
Zinc (µg g ⁻¹)		19,540 (1,915)	47 (2)	136 (22)	97 (10)

Echantillonnage

Trois espèces végétales parmi les espèces dominantes sur les 4 sites ont été échantillonnées : *Quercus petraea*, *Alnus glutinosa* et *Betula alba*. Trois individus, numérotés de 1 à 3, de chaque espèce ont été étudiés sur chaque site. Cela a été possible pour toutes les espèces, hormis les bouleaux qui ont été représentés par un seul individu sur le site U1. En mai, juillet et septembre 2012 (respectivement aux jours juliens 125, 199 et 271), un fragment de branche de chaque individu a été prélevé à l'aide d'un échenilloir à une hauteur de 5 m. Une quinzaine de grammes de feuilles a été stockée à -20°C puis lyophilisée afin de réaliser les dosages de fibres totales, de lignine et de cellulose. Un second échantillon d'une quinzaine de grammes de feuilles fraîches a été prélevé sur chaque fragment de branche et placé à -80°C avant d'être déshydraté par lyophilisation. Ce second échantillon a été utilisé pour l'ensemble des autres

analyses réalisées dans le cadre de cette étude. Durant l'automne 2012, des filets ont été placés sous chaque individu afin de récolter leur litière tout en évitant le contact avec le sol. Le contenu de ces filets a été récolté au jour julien 317. La litière ainsi collectée a ensuite été séchée à l'air. Du fait de la proximité de certains individus, certaines litières ont été mélangées dans le même filet : les 3 aulnes du site U1, les chênes 2 et 3 de ce même site, les chênes 1 et 2 du site U2, les aulnes 2 et 3 du site U3 et les aulnes 1 et 2 du site P.

Masse surfacique (LMA)

Immédiatement après chaque récolte aux trois dates, un lot de 10 feuilles vertes, a été utilisé pour la mesure du LMA. Du fait que cet échantillonnage a été fait aléatoirement sur chaque branche, tout comme les échantillonnages réalisés pour les autres analyses, nous avons considéré que les valeurs mesurées sur un lot seraient identiques à celles mesurées sur les autres lots. La surface de chaque feuille a été déterminée par comparaison à un étalon de 25 cm², à partir de photographies. Pour cela a été utilisé le logiciel d'analyse d'images ImageJ, libre de droits. Les feuilles ont ensuite été lyophilisées puis pesées. La masse surfacique a ensuite été calculée pour chaque feuille par le ratio entre leur masse sèche pesée (en g) et leur surface (en m²). Dans le cas de la litière, pour chaque site et espèce d'arbre, un lot de 10 feuilles séchées à l'air a été réalisé et pesé. Avant réalisation des clichés, les feuilles ont été réhumidifiées à l'aide d'aspersion à l'eau déminéralisée pour pouvoir les mettre à plat. Enfin, pour les feuilles et les litières, une masse surfacique moyenne pour chaque individu et chacune des quatre dates de prélèvement a été calculée.

Analyses élémentaires

Les feuilles lyophilisées ainsi que les litières séchées à l'air ont été broyées à l'aide d'un broyeur à bille. Ces broyats ont été utilisés pour l'ensemble des analyses décrites dans les sections ci-après.

Les teneurs en C et N de chaque broyat ont été déterminées sur 2,5 mg de poudre végétale en utilisant un analyseur Carlo-Erba NA 2100. Le phosphore organique a été déterminé sur un échantillon de 3 mg de poudre végétale, minéralisé dans un mélange d'hydroxyde de sodium 1 N, de persulfate de sodium 0,5 M et placé à l'autoclave à 120°C et 1 bar pendant 2 heures. Une quantification spectrophotométrique basée sur la norme AFNOR (1990) a été réalisée à l'aide d'un automate (Konelab 420-XTi, 169 Thermofischer). Le cadmium, le zinc et le plomb ont été extraits des broyats par minéralisation de 200 mg de poudres dans 4 mL d'acide nitrique à 35 % pendant 48h à 60°C. Les minéralisats ont ensuite été dosés en utilisant un spectromètre d'absorption atomique avec un atomiseur à four (Varian, spectra 300).

Lignine et cellulose

Les pourcentages massiques en fibres totales, cellulose et lignine des feuilles et litières ont été estimés par méthode gravimétrique en utilisant la méthode d'attaque détergent-acide sur 200 mg de poudre végétale (Loranger et al., 2002). Une première attaque a été réalisée à l'aide d'un mélange de cetyltriméthylammonium bromide (CTAB) à 20 g L⁻¹ dans une solution d'acide sulfurique à 0,5 M. La matière ainsi extraite a été éluée à travers des creusets poreux de 7 µm. Cette première attaque a permis d'évaluer le pourcentage de fibres totales. La cellulose a été évaluée suite à une seconde attaque à l'acide sulfurique à 72 % (m : m). Enfin, le pourcentage de lignine a été estimé en déterminant la quantité de cendres contenue dans la

poudre de litière suite à un passage en four à moufle à 450°C pendant 3 h. L'ensemble des pourcentages a été calculé en fonction de la masse sèche sans cendres.

Composés phénoliques totaux

Les composés phénoliques totaux des feuilles et litières ont été extraits de 2 mg de poudre végétale à l'aide d'une solution de méthanol à 70 %. L'extraction a été réalisée sous agitation pendant 2h à 16°C selon des cycles de 2 minutes sous agitation à 1300 rpm et 2 minutes de repos. Les extraits ont ensuite été centrifugés à 13000 rpm pendant 10 minutes à 16°C. Le dosage des composés phénoliques totaux contenus dans le surnageant a été réalisé selon la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu, telle que décrite dans (Box, 1983), en utilisant une solution d'acide tannique comme étalon. L'absorbance mesurée sur les échantillons a été corrigée pour tenir compte de l'interférence de composés non tanniques avec le réactif de Folin. Pour cela, une partie du surnageant a été utilisée pour une précipitation de ces tanins par le polyvinylpolypyrrolidone (Sigma-Aldrich, P6755; CAS number 9003-39-8). Le surnageant en résultant a également été dosé par méthode spectrophotométrique. Cette absorbance, provenant de l'activité des composés non-phénoliques, a ensuite été déduite de l'absorbance totale.

Analyses statistiques

Pour chaque espèce végétale, les effets de la pollution du sol, de la date de prélèvement des feuilles et leurs interactions sur tous les paramètres précédemment décrits, ont été testés en utilisant un modèle à effet mixte. Dans ce modèle, les arbres de chaque espèce ont été définis comme facteur aléatoire. La date de prélèvement des feuilles y a été définie comme co-facteur pour détecter les potentielles variations non-linéaires au cours du temps. L'effet de la

pollution du sol a été évalué en utilisant des contrastes de Helmert. Les contrastes en plans orthogonaux sont simples d'interprétation et présentent une approche plus puissante que les comparaisons post hoc (Quinn & Keough, 2002). Deux groupes de contrastes ont été utilisés. Le premier plan orthogonal a permis de comparer les données du site pollué contre la moyenne des trois sites témoins, et, par conséquent, a permis de tester l'effet de la pollution du sol. Deux autres plans orthogonaux ont comparé les sites témoins entre eux et ont donc pris en compte la variabilité liée à l'hétérogénéité entre ces sites. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R 2.15.2 (R Development Core Team, 2012) et son extension pour réaliser les modèles à effets mixtes ("nlme" package; (Pinheiro et al., 2012).

Résultats

Gestion des métaux

Les teneurs en ETM (Pb, Zn et Cd) mesurées dans les feuilles ont montré une forte variabilité interspécifique (Figure 4.2). L'aulne et le chêne ont tous deux été caractérisés par de faibles teneurs foliaires en ETM, teneurs qui n'ont pas montré de variabilité notable au court du temps. En moyenne, toutes dates et tous sites confondus, les teneurs en ETM mesurées dans les feuilles d'aulne ont été de $0,74 \pm 0,41$, de 72 ± 37 , et de $0,03 \pm 0,03 \mu\text{g g}^{-1}$ de matière sèche pour le Pb, le Zn, et le Cd respectivement (Figures 4.2.a, d et g). Les teneurs dans les feuilles de chêne ont été très proches de celles de l'aulne, avec des valeurs de $0,53 \pm 0,26$, de 40 ± 15 et de $0,02 \pm 0,01 \mu\text{g g}^{-1}$ de matière sèche pour le Pb, le Zn, et le Cd respectivement (Figures 4.2.c, f et i). Une différence significative des teneurs en Pb des feuilles d'aulne et de chêne a été observée entre les feuilles provenant du site pollué et celles provenant des sites témoins. Le même constat a été fait avec les teneurs en Zn des feuilles d'aulne. Toutefois, les écarts ont été trop faibles pour être considérés comme un effet réel de la pollution du sol. Dans le cas

des teneurs en Pb dans les feuilles d'aulne, modalité pour laquelle l'écart a été plus grand, la teneur moyenne toutes dates confondues a été de $1,2 \pm 0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ dans le cas du site pollué et de $0,58 \pm 0,24 \mu\text{g g}^{-1}$ dans le cas des sites témoins.

Le bouleau, contrairement aux deux autres espèces, a montré une forte accumulation du Zn et du Cd dans ses feuilles provenant du site pollué (Figures 4.2.e et h). Les teneurs moyennes en Zn des feuilles de bouleau toutes dates confondues ont été de 408 ± 146 ppm pour le site pollué contre 58 ± 207 ppm pour les 3 sites témoins (Figures 4.2.d, e et f). Pour le Cd, ces teneurs moyennes ont été de $0,26 \pm 0,07$ ppm pour le site pollué contre $0,03 \pm 0,08$ ppm pour les 3 sites témoins (Figures 4.2.e, f. et g.). Par ailleurs, dans les feuilles provenant du site pollué, une accumulation du Zn et du Cd est observée dans les litières, avec une augmentation des teneurs en ces deux métaux entre les feuilles de septembre et la litière. Cette augmentation a été de 17 % pour le Zn et de 54 % pour le Cd. Enfin, la teneur moyenne toutes dates confondues en Cd dans le seul bouleau du site U1 a été de $0,23 \pm 0,04$ ppm. Cette valeur était nettement supérieure à celles des autres témoins et comparable à celle du site pollué.

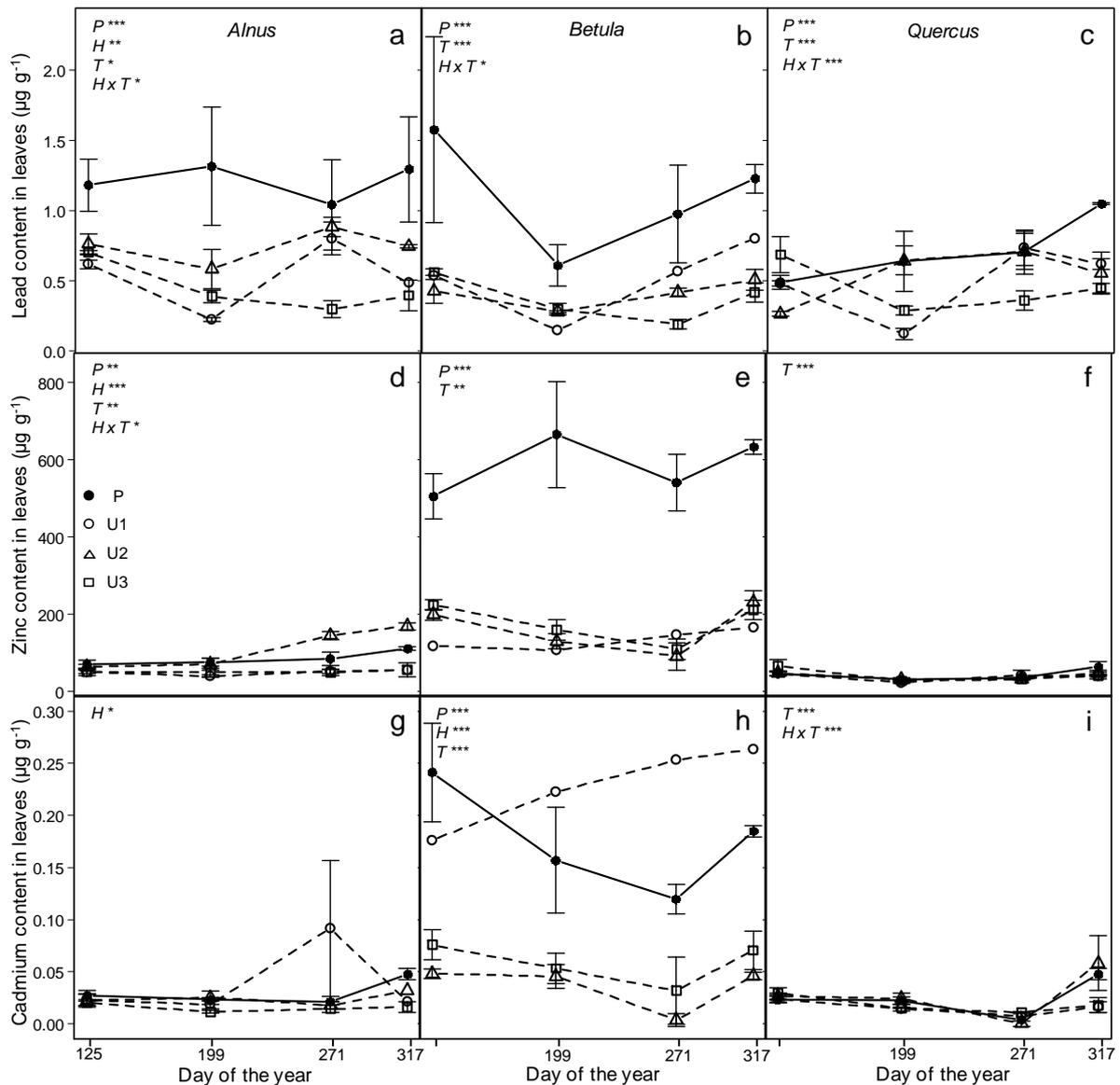


Figure 4.2 Effet de l'espèce végétale et du site d'origine sur les teneurs en métaux des feuilles au cours du temps. Sont représentées les teneurs en plomb (a = aulne, b = bouleau, c = chêne), en zinc (d = aulne, e = bouleau, f = chêne) et en cadmium (g = aulne, h = bouleau, i = chêne). Le type de ligne et les symboles décrivent le site d'origine des feuilles (lignes continues et symboles pleins = site pollué, lignes pointillées et symboles vides = sites témoins). Les valeurs indiquées sont des moyennes \pm erreurs standards. Au sein de chaque vignette sont indiqués les résultats d'analyse du modèle pour la variable comparant le site pollué aux sites témoins (P), les sites témoins entre eux (H), les différentes dates de récolte (T) ainsi que leurs interactions ($P \times T$ et $H \times T$). Les étoiles représentent la significativité des effets (*** : $P < 0,001$; ** : $P < 0,01$, * : $P < 0,05$, pas de variable : $P > 0,05$).

Gestion des éléments

Les teneurs en carbone ont montré, pour les 4 sites et les 3 espèces végétales, une légère augmentation entre chaque date de prélèvement (Figures 4.3.a, b et c). Toutes espèces et tous sites confondus, les teneurs en carbone des feuilles sont passées de 48 % en mai à 51 % en novembre. Par ailleurs, les chênes ont montré en moyenne des teneurs en carbone légèrement plus faibles. Pour chaque espèce végétale, aucune différence significative dans les teneurs en carbone des feuilles n'a été observée entre site pollué et sites témoins.

Les teneurs en azote des feuilles ont suivi globalement le même patron au cours du temps, quel que soit le site d'origine des feuilles et l'espèce considérée. Les teneurs ont diminué entre les jours juliens 125 et 199, augmenté entre les jours juliens 199 et 271, pour enfin diminuer une nouvelle fois dans les litières (Figures 4.3.d, e et f). Les teneurs en azote ont été significativement plus grandes dans les feuilles provenant du site pollué que dans celles des sites témoins, et cela quelle que soit l'espèce végétale. Les différences les plus grandes ont été observées au jour julien 271. Pour l'aulne, le bouleau et le chêne, les teneurs en azote des feuilles des sites témoins variaient respectivement entre 2,73 et 5,21 %, entre 2,46 et 4,86 %, et entre 2,69 et 3,93 %, alors que les teneurs dans les feuilles du site pollué étaient bien supérieures, avec des teneurs moyennes de 5,9, 5,2 et 5,0 %. Du fait de la forte diminution de la teneur en azote des feuilles du site pollué entre les jours juliens 271 et 317, seules les litières d'aulne sont encore plus riches en azote dans le site pollué (4,88%) que dans les sites témoins (entre 3,84 et 4,78 %). Enfin, pour chaque date d'échantillonnage, la teneur en azote dans les feuilles d'aulne a été en moyenne 14 % plus grande que dans les feuilles de bouleau et de chêne.

Pour l'ensemble des espèces végétales, la teneur en phosphore des feuilles a diminué entre chaque date d'échantillonnage (Figures 4.3.g, h et i). Dans les feuilles de la première date d'échantillonnage, les teneurs foliaires en P ont montré une forte variabilité interspécifique. Par ordre croissant, ces teneurs ont varié entre 0,2 et 0,9 % pour l'aulne, entre 0,3 et 1,8 % pour le bouleau, et entre 1,2 et 2,1 %. Dans les litières, les teneurs en phosphore ont montré peu de variabilité entre sites et entre espèces, avec une teneur moyenne de $0,26 \pm 0,20$ %. La diminution de la teneur en P des feuilles la plus forte a donc été observée pour le chêne et la plus faible pour l'aulne. Statistiquement, les teneurs en phosphore ont été plus faibles pour les feuilles provenant du site pollué que pour celles des sites témoins, et cela pour les trois espèces végétales. Toutefois, cet effet a été principalement marqué pour le bouleau, avec des teneurs dans les feuilles du site pollué en moyenne 54 % plus faibles que dans les feuilles des sites témoins.

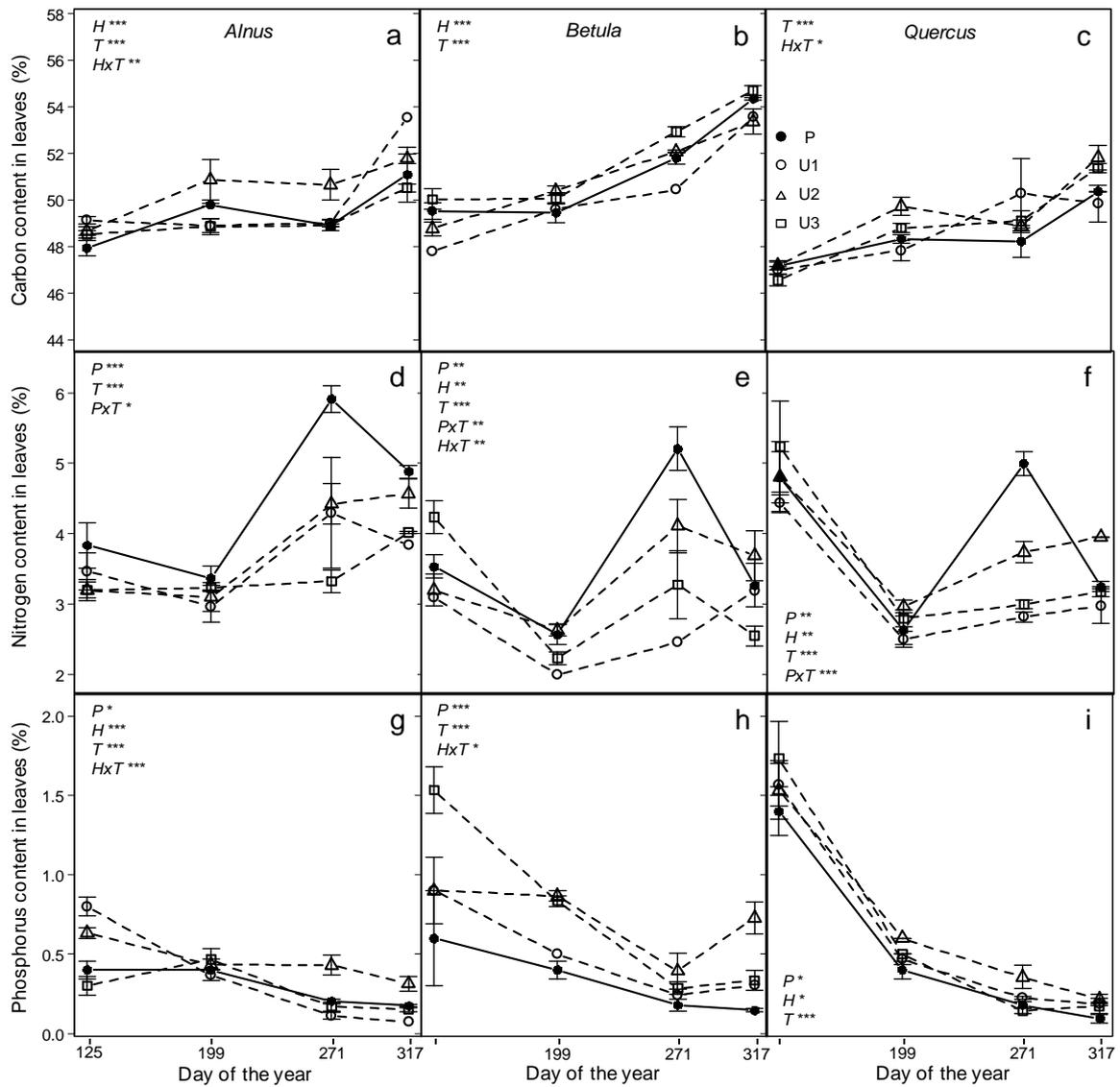


Figure 4.3 Effet de l'espèce végétale et du site d'origine sur la composition élémentaire au cours du temps. Sont représentées les teneurs en carbone (a = aulne, b = bouleau, c = chêne), en azote (d = aulne, e = bouleau, f = chêne) et en phosphore (g = aulne, h = bouleau, i = chêne). Le type de ligne et les symboles décrivent le site d'origine des feuilles (lignes continues et symboles pleins = site pollué, lignes pointillées et symboles vides = sites témoins). Les valeurs indiquées sont des moyennes \pm erreurs standards. Au sein de chaque vignette sont indiqués les résultats d'analyse du modèle pour la variable comparant le site pollué aux sites témoins (P), les sites témoins entre eux (H), les différentes dates de récolte (T) ainsi que leurs interactions ($P \times T$ et $H \times T$). Les étoiles représentent la significativité des effets (***) : $P < 0,001$; ** : $P < 0,01$, * : $P < 0,05$, pas de variable : $P > 0,05$).

Lignine & cellulose

Quelles que soit la date d'échantillonnage et l'espèce considérées, la teneur en cellulose des feuilles provenant du site pollué a été plus grande que la teneur moyenne des feuilles provenant des sites témoins (Figures 4.4.a, b et c). Cela a été particulièrement marqué dans le cas du chêne, pour lequel la teneur en cellulose, quelle que soit la date d'observation, a été systématiquement supérieure lorsque les feuilles provenaient du site pollué. Les teneurs dans les feuilles polluées ont été en moyenne 19 %, 17 % et 28 % supérieures à celles des feuilles témoins d'aulne, de bouleau et de chêne respectivement (Figures 4.4.a, b et c). Tous sites confondus, les teneurs moyennes en cellulose dans les feuilles du jour julien 125 ont été de 10,3, 8,9 et 9,4 % pour l'aulne, le bouleau et le chêne respectivement, pour atteindre des teneurs moyennes de 19,2, 18,2 et 23,7 % dans les litières correspondantes. Les teneurs en cellulose ont donc montré une augmentation au cours du temps, en particulier pour le chêne, chez lequel cette augmentation a été la plus forte.

Les feuilles de bouleau et de chêne ont montré une différence significative de leurs teneurs en lignine entre celles provenant du site pollué et celles provenant des sites témoins (Figures 4.4.e et f). Toutefois, cet effet de la pollution peut être négligé du fait du faible écart de teneurs constaté. Dans le cas du bouleau, les teneurs en lignine ont été en moyenne 14 % plus fortes dans les feuilles du site pollué que dans celles des sites témoins et 15 % plus faibles dans le cas du chêne. L'aulne, quant à lui, n'a montré aucune différence de teneur en lignine entre site pollué et sites témoins (Figures 4.4.d). Les teneurs en lignine ont également montré une augmentation au cours du temps. La teneur moyenne tous sites confondus est passée de 3,9, 5,9 et 1,6 % pour l'aulne, le bouleau et le chêne respectivement à des teneurs de 16,1, 24,6 et 21,7 % (Figures 4.4.d, e et f). Ces valeurs soulignent également que les feuilles de bouleau ont eu des teneurs en lignine plus élevées que pour les deux autres espèces.

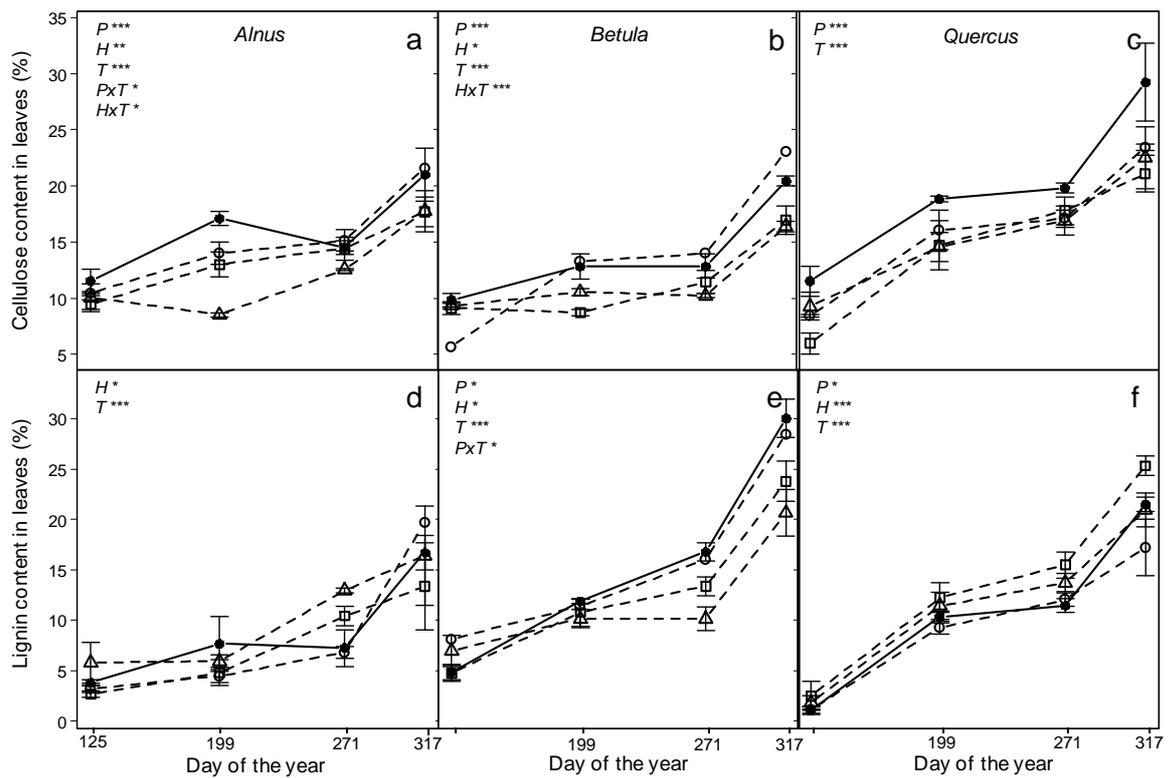


Figure 4.4 Effet de l'espèce végétale et du site d'origine sur la composition en fibre des feuilles au cours du temps. Sont représentés les pourcentages en cellulose (a = aulne, b = bouleau, c = chêne) et en lignine (d = aulne, e = bouleau, f = chêne). Le type de ligne et les symboles décrivent le site d'origine des feuilles (lignes continues et symboles pleins = site pollué, lignes pointillées et symboles vides = sites témoins). Les valeurs indiquées sont des moyennes \pm erreurs standards. Au sein de chaque vignette sont indiqués les résultats d'analyse du modèle pour la variable comparant le site pollué aux sites témoins (P), les sites témoins entre eux (H), les différentes dates de récolte (T) ainsi que leurs interactions ($P \times T$ et $H \times T$). Les étoiles représentent la significativité des effets (***) :

$P < 0,001$; ** : $P < 0,01$, * : $P < 0,05$, pas de variable : $P > 0,05$).

Composés phénoliques

Quelle que soit la date d'observation et l'espèce considérée, la teneur en composés phénoliques des feuilles provenant du site pollué a été plus faible que la teneur moyenne mesurée dans les feuilles des sites témoins (Figure 4.5). Les teneurs dans les feuilles du site pollué ont respectivement été plus faibles de 35 %, 30 % et 38 % pour l'aulne, le bouleau et le chêne. Au cours du temps, les teneurs en composés phénoliques ont peu varié dans le cas du bouleau. Entre les feuilles du jour julien 125 et la litière, cette teneur est passée de 68 à 66 mg g⁻¹. Par contre, une diminution de cette teneur a été observée pour l'aulne et le chêne. Aux mêmes dates, la teneur en composés phénoliques est passée de 88 à 40 mg g⁻¹ pour l'aulne et de 93 à 64 mg g⁻¹ pour le chêne.

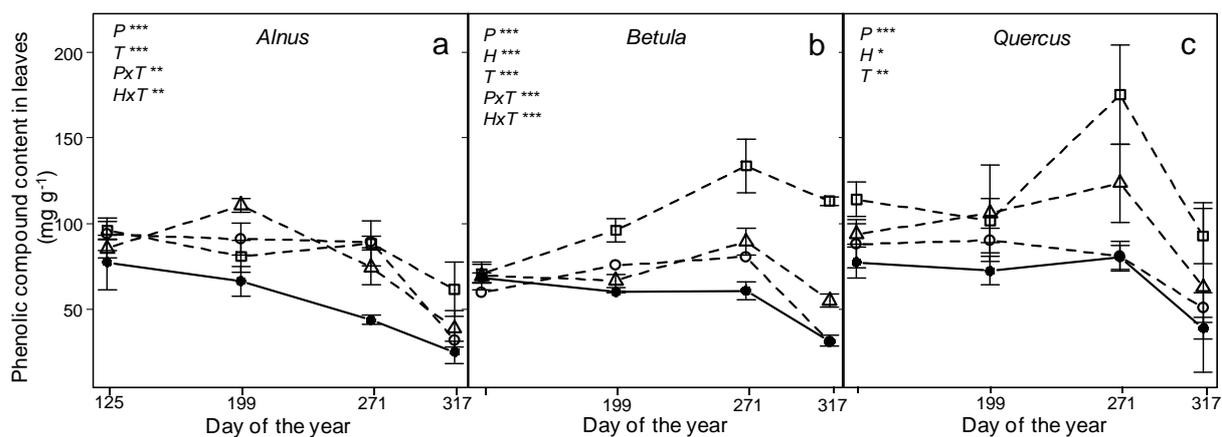


Figure 4.5 Effet de l'espèce végétale et du site d'origine sur la teneur en composés phénoliques des feuilles au cours du temps. Sont représentées les teneurs dans les feuilles d'aulne (a), de bouleau (b) et de chêne (c). Le type de ligne et les symboles décrivent le site d'origine des feuilles (lignes continues et symboles pleins = site pollué, lignes pointillées et symboles vides = sites témoins). Les valeurs indiquées sont des moyennes \pm erreurs standards. Au sein de chaque vignette sont indiqués les résultats d'analyse du modèle pour la variable comparant le site pollué aux sites témoins (P), les sites témoins entre eux (H), les différentes dates de récolte (T) ainsi que leurs interactions (PxT et HxT). Les étoiles représentent la significativité des effets (***: $P < 0,001$; **: $P < 0,01$, * : $P < 0,05$, pas de variable : $P > 0,05$).

Discussion

Gestion des métaux

Nos résultats ont montré que lorsque les métaux s'accumulent dans les feuilles, leurs teneurs ont augmenté entre les feuilles et la litière. Ce résultat nous a permis de répondre à notre objectif initial en confirmant que les espèces végétales que nous avons étudié ne réassimilent pas les métaux lors de la sénescence de leurs feuilles.

Toutefois, ce résultat n'est pas observable pour l'ensemble des 3 ETM étudiés car alors que le Cd et le Zn ont été retrouvés dans les feuilles, les teneurs foliaires en Pb sont restées très faibles. Le plomb est effectivement connu pour n'être trouvé qu'en faibles quantités dans les parties aériennes des angiospermes même si les plantes se développent sur un sol pollué par ce métal. Cela s'explique principalement par la rétention de ce métal au niveau racinaire sous contrainte de la subérisation des cellules de l'endoderme (Taiz & Zeiger, 2006), empêchant le Pb de pénétrer jusqu'aux faisceaux conducteurs (Weis & Weis, 2004). Les teneurs en Zn et Cd atteintes dans les litières de bouleau dénotent une gestion différente des deux ETM par cette espèce. En effet, le Cd a présenté un facteur d'accumulation 10 fois inférieur à celui du Zn. Le Cd est connu pour être fortement séquestré dans les racines (Gussarsson, 1994) et également pour avoir une forte affinité pour le mucilage racinaire (Morel et al., 1986), ce qui peut expliquer sa moins grande accumulation dans les feuilles. Quoiqu'il en soit, la présence de Cd et de Zn dans les feuilles a confirmé que contrairement au Pb, ces deux ETM peuvent passer la barrière de l'endoderme.

Nous avons également remarqué qu'une variabilité interspécifique apparaissait quant à la gestion des métaux. En effet, les aulnes et les chênes n'ont pas montré d'accumulation des 3 ETM dans leurs feuilles. Dans le cas du Pb, les mêmes mécanismes que ceux impliqués pour le bouleau sont certainement engagés. L'absence d'accumulation du Cd et du Zn dans les

feuilles a déjà été observée pour l'aulne et le chêne (Mertens et al., 2004; Domínguez et al., 2009). Toutefois, les mécanismes impliqués restent à notre connaissance non identifiés. Cependant, de nombreux mécanismes peuvent être impliqués, basés sur la diminution des ETM disponibles dans le sol (Nian et al., 2002), leur exclusion de la plante (Lambers et al., 2008), ou encore leur séquestration dans des compartiments cellulaires tels que les vacuoles, où leur toxicité est limitée (Eapen & D'Souza, 2005; Yang et al., 2005).

Enfin, pour les deux ETM accumulés dans les feuilles, nous avons remarqué que leur teneur semblait particulièrement stable. D'un point de vue mécanistique, cela indique que l'accumulation des métaux dans les feuilles de bouleau est mise en place dès les premières phases de développement de la feuille. Par ailleurs, du fait d'un effet dilution dû à la croissance de la feuille ainsi que de la stabilité de la concentration en ETM, nous pouvons supposer que l'accumulation des ETM se déroule tout au long de la vie de la feuille, au moins jusqu'à la phase de sénescence.

Qualité des feuilles et litières

Parmi l'ensemble des traits de qualité des feuilles et litières, l'azote a montré des teneurs plus importantes dans les feuilles provenant du site pollué et en moindre mesure dans les litières. L'effet des ETM sur l'acquisition des nutriments par les arbres est peu documenté, notamment du fait de la complexifié qu'apportent les interactions avec les champignons mycorhizien (Siedlecka, 1995). Toutefois, Blaudez et al. (2000) ont montré qu'une pollution au Cd, Zn et Pb induisait une diminution de l'assimilation de l'azote sous forme de méthylamine et d'acide aminoisobutinique par le bouleau, via les mycorhizes. Dans notre cas, l'effet inverse a été observé, ce qui nous laisse penser qu'un facteur environnemental autre que la pollution et propre au site pollué pourrait expliquer cet effet. En effet, le sol du site expérimental se distingue des sites témoins sur d'autres caractéristiques physico-chimiques

que la pollution. En particulier, les teneurs en azote du sol plus fortes pour le site pollué pourraient expliquer nos résultats car la teneur en azote des feuilles est fortement corrélée à cette dernière (Vitousek, 1998; Wright & Westoby, 2003; Hättenschwiler et al., 2008). Pour ce qui est des teneurs en phosphore, autre trait de la qualité des feuilles et litières, un effet de la pollution a été observé, avec des teneurs plus faibles pour les feuilles provenant du site pollué. La teneur en phosphore du sol étant, comme l'azote, plus grande dans le site pollué que dans les sites témoins, ce facteur ne peut pas expliquer ce résultat. L'effet des ETM sur l'assimilation du P est également peu documenté pour les arbres. Toutefois, les métaux sont connus pour perturber l'acquisition du P chez les herbacées, bien que cet effet varie selon l'espèce végétale et l'ETM étudié (Siedlecka, 1995)

La teneur en composés phénoliques est également impliquée dans la qualité des feuilles et litières. Nous avons observé que cette teneur était plus faible dans les feuilles et litières provenant du site pollué que des sites témoins. L'activation des voies de biosynthèse de ces composés par les ETM a été observé pour le Ni (Pandolfini et al., 1992), le Cd (Fuhrer, 1982), ainsi que le Zn (Parry et al., 1994). Dans notre cas, l'effet inverse est observé. Toutefois, (Koricheva et al., 1998), en réalisant une méta-analyse, ont montré que les voies de biosynthèse des composés phénoliques étaient également contrôlées par d'autres paramètres physico-chimiques du sol, avec notamment un effet négatif de la teneur en azote du sol. Là encore, la forte teneur en azote du sol pollué pourrait expliquer la plus faible teneur en composés phénoliques de nos feuilles.

Les teneurs en fibre des feuilles sont également des traits de qualité, et plus particulièrement la lignine (Dungait et al., 2012). Dans une précédente étude basée sur les mêmes sites expérimentaux (Lucisine et al., 2015), l'un de nos résultats majeurs était que la qualité de la litière de *Populus tremula* L. était positivement affectée par l'anthropisation du site pollué, cela via une diminution de la teneur en lignine. Ici, les teneurs en lignine des feuilles d'aulne,

de bouleau et de chêne n'ont pas montré de différences notables entre site pollué et sites témoins, ce qui implique, à la vue des différents traits de qualité suivis, que la litière semble de meilleure qualité lorsqu'elle est produite sur un sol de friche industrielle pour 4 espèces végétales, mais que les traits de qualité impliqués dans ces résultats changent d'une espèce à l'autre.

Conséquences pour l'écosystème

La pollution des sols en ETM a entraînée à la fois une accumulation de ces métaux dans les feuilles et dans les litières, conséquence de l'absence de réassimilation de ces derniers, et également des modifications de la qualité des feuilles et des litières.

Les ETM présents dans les feuilles pourront négativement affecter les herbivores, servant ainsi de système de défense contre l'herbivorie (Behmer et al., 2005; Rascio & Navari-Izzo, 2011). Par ailleurs, les ETM présents dans les litières pourront également induire des effets délétères sur les détritivores, comme une diminution de la croissance (Hopkin et al., 1985; Ma, 1988; Köhler et al., 1995), de la survie, ou encore du taux de reproduction (Ma, 1988; Spurgeon & Hopkin, 1999; Spurgeon et al., 2000). La conséquence de ces effets peut être une perturbation de la structure des communautés de ces organismes, allant jusqu'à la disparition d'un groupe trophique, comme il a pu être observé avec les vers de terre (Spurgeon & Hopkin, 1996). Les microorganismes se développant sur ces litières verront également la structure de leur communauté perturbée (Baath, 1989; Brandt et al., 2006; Giller et al., 2009). En plus de ces effets délétères, les herbivores et les détritivores consommant les ressources produites par les plantes du site pollué seront également affectés par les modifications de la qualité de cette ressource. Notamment, la teneur en composés phénoliques observée à la fois dans les feuilles et dans les litières sera bénéfique à la fois pour les herbivores (Hagerman, 2002) et pour les détritivores (Niehaus & Gross, 1997; Schweitzer et al., 2004). Les fortes

teneurs en azote observées dans les feuilles seront également bénéfiques pour les herbivores (Williams & Mattson, 1980). Par ailleurs, l'effet des ETM sur les teneurs en azote et en phosphore des feuilles et des litières a pour conséquence de modifier les ratios stœchiométriques en ces nutriments dans la ressource. La qualité stœchiométrique de la ressource en découlant pourra répondre différemment au besoin des consommateurs (maintenance, croissance, reproduction,..) (Sturner & Schulz, 1998).

Une fonction écosystémique telle que la décomposition de la litière va dépendre à la fois de la qualité de la litière et de la structure des communautés de ses acteurs : les décomposeurs et les microorganismes décomposeurs (Hendrix et al., 1986; Aerts, 1997; Schimel & Gulledge, 1998; Reed & Martiny, 2007). Nos résultats suggèrent que le fonctionnement des écosystèmes du sol peut être affecté par la pollution du sol, et notamment la décomposition de la litière, via les végétaux, à la fois par une accumulation des ETM dans la litière affectant les consommateurs, mais également par une modification de la qualité de cette litière.

Conclusion

L'objectif principal de cette étude a été d'identifier, pour 3 espèces végétales, la stratégie de gestion des métaux dans leurs feuilles et litières. Il ressort de nos résultats une grande variabilité de gestion entre les 3 espèces, avec une accumulation de métaux observée uniquement pour le bouleau, et également une gestion différente des métaux selon leur nature, avec notamment l'absence systématique de plomb dans les feuilles et litières. Dans le cas des métaux accumulés dans les feuilles, le Cd et le Zn, aucune réassimilation n'a été observée lors de la sénescence des feuilles. Cette stratégie induit une légère diminution de la teneur totale en ETM des végétaux. Toutefois, cette stratégie se fait au détriment des consommateurs de cette litière (faune et microorganismes) qui se trouvent exposés à la pollution par voie trophique, ce qui s'ajoute à la voie par contact du fait que leur habitat, le sol, est également pollué. Nous avons également observé que 3 traits de qualité de la litière, la teneur en azote, en phosphore et en composés phénoliques, étaient impactés pour nos trois espèces végétales par la pollution du sol et d'autres paramètres physico-chimiques du sol spécifiques du sol fortement anthropisé. Nous avons émis l'hypothèse que la pollution des sols ainsi que les propriétés physico-chimiques des sols des friches industrielles impactent le fonctionnement des écosystèmes, en particulier la décomposition de la litière, via une modification de la qualité de la litière, en plus de la présence de polluants dans les litières. Afin d'avoir une meilleure appréhension des conséquences réelles de la pollution sur les consommateurs des feuilles et des litières, l'étude des effets combinés de la qualité et de l'accumulation d'ETM dans la ressource sur la consommation des feuilles et la décomposition de la litière présente un grand intérêt.

Références bibliographiques

- Aerts, R. (1997). Climate, leaf litter chemistry and leaf litter decomposition in terrestrial ecosystems: a triangular relationship. *Oikos*, 439–449.
- Agren, G. I., Bosatta, E., & Magill, A. H. (2001). Combining theory and experiment to understand effects of inorganic nitrogen on litter decomposition. *Oecologia*, 128(1), 94–98.
- Austin, A. T., & Ballaré, C. L. (2010). Dual role of lignin in plant litter decomposition in terrestrial ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(10), 4618–4622.
- Baath, E. (1989). Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations (a review). *Water, Air, and Soil Pollution*, 47(3-4), 335–379.
- Barbehenn, R. V., & Constabel, C. P. (2011). Tannins in plant–herbivore interactions. *Phytochemistry*, 72(13), 1551–1565.
- Behmer, S. T., Lloyd, C. M., Raubenheimer, D., Stewart-Clark, J., Knight, J., Leighton, R. S., Harper, F. A., & Smith, J. A. C. (2005). Metal hyperaccumulation in plants: mechanisms of defence against insect herbivores. *Functional Ecology*, 19(1), 55–66.
- Blaudez, D., Botton, B., & Chalot, M. (2000). Effects of heavy metals on nitrogen uptake by *Paxillus involutus* and mycorrhizal birch seedlings. *FEMS Microbiology Ecology*, 33(1), 61–67.
- Box, J. D. (1983). Investigation of the Folin-Ciocalteu phenol reagent for the determination of polyphenolic substances in natural waters. *Water Research*, 17(5), 511–525.
- Brandt, K. K., Petersen, A., Holm, P. E., & Nybroe, O. (2006). Decreased abundance and diversity of culturable *Pseudomonas* spp. populations with increasing copper exposure in the sugar beet rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, 56(2), 281–291.

- Cadisch, G., & Giller, K. E. (1997). *Driven by nature: plant litter quality and decomposition*. CAB international.
- Coûteaux, M.-M., Bottner, P., & Berg, B. (1995). Litter decomposition, climate and litter quality. *Trends in Ecology & Evolution*, *10*(2), 63–66.
- Dahmani-Muller, H., Van Oort, F., Gelie, B., & Balabane, M. (2000). Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. *Environmental Pollution*, *109*(2), 231–238.
- Domínguez, M. T., Madrid, F., Marañón, T., & Murillo, J. M. (2009). Cadmium availability in soil and retention in oak roots: potential for phytostabilization. *Chemosphere*, *76*(4), 480–486.
- Donascimento, C., Amarasiriwardena, D., & Xing, B. (2006). Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. *Environmental Pollution*, *140*(1), 114–123.
- Dungait, J. A., Hopkins, D. W., Gregory, A. S., & Whitmore, A. P. (2012). Soil organic matter turnover is governed by accessibility not recalcitrance. *Global Change Biology*, *18*(6), 1781–1796.
- Durand, T. C., Hausman, J. F., Carpin, S., Albéric, P., Baillif, P., Label, P., & Morabito, D. (2010). Zinc and cadmium effects on growth and ion distribution in *Populus tremula* × *Populus alba*. *Biologia Plantarum*, *54*(1), 191–194.
- Eapen, S., & D'Souza, S. F. (2005). Prospects of genetic engineering of plants for phytoremediation of toxic metals. *Biotechnology Advances*, *23*(2), 97–114.
- Elobeid, M., Göbel, C., Feussner, I., & Polle, A. (2012). Cadmium interferes with auxin physiology and lignification in poplar. *Journal of Experimental Botany*, *63*(3), 1413–1421.

- Fuhrer, J. (1982). Early effects of excess cadmium uptake in *Phaseolus vulgaris*. *Plant, Cell & Environment*, 5(4), 263–270.
- Gallego, S. M., Pena, L. B., Barcia, R. A., Azpilicueta, C. E., Iannone, M. F., Rosales, E. P., Zawoznik, M. S., Groppa, M. D., & Benavides, M. P. (2012). Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. *Environmental and Experimental Botany*, 83, 33–46.
- Giller, K. E., Witter, E., & McGrath, S. P. (2009). Heavy metals and soil microbes. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(10), 2031–2037.
- Güsewell, S., & Verhoeven, J. T. (2006). Litter N: P ratios indicate whether N or P limits the decomposability of graminoid leaf litter. *Plant and Soil*, 287(1-2), 131–143.
- Gussarsson, M. (1994). Cadmium-induced alterations in nutrient composition and growth of *betula pendula* seedlings: The significance of fine roots as a primary target for cadmium toxicity. *Journal of Plant Nutrition*, 17(12), 2151–2163.
- Hagerman, A. E. (2002). *Tannin Handbook*. Miami University. Oxford OH.
- Hagerman, A. E., Riedl, K. M., Jones, G. A., Sovik, K. N., Ritchard, N. T., Hartzfeld, P. W., & Riechel, T. L. (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1887–1892.
- Hättenschwiler, S., Aeschlimann, B., Coûteaux, M.-M., Roy, J., & Bonal, D. (2008). High variation in foliage and leaf litter chemistry among 45 tree species of a neotropical rainforest community. *New Phytologist*, 179(1), 165–175.
- Hendrix, P. F., Parmelee, R. W., Crossley, D. A., Coleman, D. C., Odum, E. P., & Groffman, P. M. (1986). Detritus food webs in conventional and no-tillage agroecosystems. *Bioscience*, 374–380.

- Hobbie, S. E. (2000). Interactions between litter lignin and nitrogen litter lignin and soil nitrogen availability during leaf litter decomposition in a Hawaiian montane forest. *Ecosystems*, 3(5), 484–494.
- Hopkin, S. P., Watson, K., Martin, M. H., & Mould, M. L. (1985). The assimilation of heavy metals by *Lithobius variegatus* and *Glomeris marginata* (Chilopoda; Diplopoda). *Bijdragen Tot De Dierkunde*, 55(1), 88–94.
- Huot. (2013). *Formation, fonctionnement et évolution d'un technosol sur des boues sidérurgiques*. Université de lorraine, Nancy.
- Huot, H., Simonnot, M. O., Watteau, F., Marion, P., Yvon, J., De Donato, P., & Morel, J. L. (2013). Early transformation and transfer processes in a Technosol developing on iron industry deposits. *European Journal of Soil Science*.
- Kieffer, P., Dommès, J., Hoffmann, L., Hausman, J.-F., & Renaut, J. (2008). Quantitative changes in protein expression of cadmium-exposed poplar plants. *Proteomics*, 8(12), 2514–2530.
- Köhler, H.-R., Körtje, K.-H., & Alberti, G. (1995). Content, absorption quantities and intracellular storage sites of heavy metals in Diplopoda (Arthropoda). *BioMetals*, 8(1), 37–46.
- Koricheva, J., Larsson, S., Haukioja, E., & Keinänen, M. (1998). Regulation of woody plant secondary metabolism by resource availability: hypothesis testing by means of meta-analysis. *Oikos*, 212–226.
- Lambers, H., Chapin, F. S., & Pons, T. L. (2008). *Plant physiological ecology* (second). Springer Science+Business Media, LLC.
- Loranger, G., Ponge, J.-F., Imbert, D., & Lavelle, P. (2002). Leaf decomposition in two semi-evergreen tropical forests: influence of litter quality. *Biology and Fertility of Soils*, 35(4), 247–252.

- Lucisine, P., Lecerf, A., Danger, M., Felten, V., Aran, D., Auclerc, A., Gross, E. M., Huot, H., Morel, J.-L., Muller, S., Nahmani, J., & Maunoury-Danger, F. (2015). Litter chemistry prevails over litter consumers in mediating effects of past steel industry activities on leaf litter decomposition. *Science of The Total Environment*, 537, 213–224.
- Ma, J. F., Ryan, P. R., & Delhaize, E. (2001). Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids. *Trends in Plant Science*, 6(6), 273–278.
- Ma, W. (1988). Toxicity of copper to lumbricid earthworms in sandy agricultural soils amended with Cu-enriched organic waste materials. *Ecological Bulletins*, 53–56.
- McDonald, M., Mila, I., & Scalbert, A. (1996). Precipitation of metal ions by plant polyphenols: optimal conditions and origin of precipitation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(2), 599–606.
- McEnroe, N. A., & Helmisaari, H.-S. (2001). Decomposition of coniferous forest litter along a heavy metal pollution gradient, south-west Finland. *Environmental Pollution*, 113(1), 11–18.
- Meentemeyer, V. (1978). Macroclimate and lignin control of litter decomposition rates. *Ecology*, 59(3), 465–472.
- Mertens, J., Vervaeke, P., De Schrijver, A., & Luysaert, S. (2004). Metal uptake by young trees from dredged brackish sediment: limitations and possibilities for phytoextraction and phytostabilisation. *Science of the Total Environment*, 326(1), 209–215.
- Morel, J. L., Mench, M., & Guckert, A. (1986). Measurement of Pb²⁺, Cu²⁺ and Cd²⁺ binding with mucilage exudates from maize (*Zea mays* L.) roots. *Biology and Fertility of Soils*, 2(1), 29–34.
- Nian, H., Yang, Z. M., Ahn, S. J., Cheng, Z. J., & Matsumoto, H. (2002). A comparative study on the aluminium-and copper-induced organic acid exudation from wheat roots. *Physiologia Plantarum*, 116(3), 328–335.

- Niehaus, J. U., & Gross, G. G. (1997). A gallotannin degrading esterase from leaves of pedunculate oak. *The International Journal of Plant Biochemistry and Molecular Biology*, 45(8), 1555–1560.
- O’Connell, D. W., Birkinshaw, C., & O’Dwyer, T. F. (2008). Heavy metal adsorbents prepared from the modification of cellulose: A review. *Bioresource Technology*, 99(15), 6709–6724.
- Pandolfini, T., Gabbrielli, R., & Comparini, C. (1992). Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. *Plant, Cell & Environment*, 15(6), 719–725.
- Parry, A. D., Tiller, S. A., & Edwards, R. (1994). The effects of heavy metals and root immersion on isoflavonoid metabolism in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Physiology*, 106(1), 195–202.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., & Team, R. C. (2012). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models, 2012. *R Package Version*, 3.1–105.
- Qualls, R. G., & Richardson, C. J. (2000). Phosphorus enrichment affects litter decomposition, immobilization, and soil microbial phosphorus in wetland mesocosms. *Soil Science Society of America Journal*, 64(2), 799–808.
- Quinn, G. P., & Keough, M. J. (2002). *Experimental design and data analysis for biologists*. Cambridge University Press.
- Rascio, N., & Navari-Izzo, F. (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*, 180(2), 169–181.
- Reed, H. E., & Martiny, J. B. (2007). Testing the functional significance of microbial composition in natural communities. *FEMS Microbiology Ecology*, 62(2), 161–170.
- Schimel, J. P., & Gulledge, J. A. Y. (1998). Microbial community structure and global trace gases. *Global Change Biology*, 4(7), 745–758.

- Schweitzer, J. A., Bailey, J. K., Rehill, B. J., Martinsen, G. D., Hart, S. C., Lindroth, R. L., Keim, P., & Whitham, T. G. (2004). Genetically based trait in a dominant tree affects ecosystem processes. *Ecology Letters*, 7(2), 127–134.
- Siedlecka, A. (1995). Some aspects of interactions between heavy metals and plant mineral nutrients. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 64(3), 265–272.
- Spurgeon, D. J., & Hopkin, S. P. (1996). Effects of Metal-Contaminated Soils on the Growth, Sexual Development, and Early Cocoon Production of the Earthworm *Eisenia fetida*, with Particular Reference to Zinc. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 35(1), 86–95.
- Spurgeon, D. J., & Hopkin, S. P. (1999). Tolerance to zinc in populations of the earthworm *Lumbricus rubellus* from uncontaminated and metal-contaminated ecosystems. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 37(3), 332–337.
- Spurgeon, D. J., Svendsen, C., Rimmer, V. R., Hopkin, S. P., & Weeks, J. M. (2000). Relative sensitivity of life-cycle and biomarker responses in four earthworm species exposed to zinc. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(7), 1800–1808.
- Sterner, R. W., & Schulz, K. L. (1998). Zooplankton nutrition: recent progress and a reality check. *Aquatic Ecology*, 32(4), 261–279.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Fisiologia vegetal* (Vol. 10). Universitat Jaume I.
- Van Belleghem, F., Cuypers, A., Semane, B., Smeets, K., Vangronsveld, J., d' Haen, J., & Valcke, R. (2007). Subcellular localization of cadmium in roots and leaves of *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, 173(3), 495–508.
- Visioli, G., Menta, C., Gardi, C., & Conti, F. D. (2013). Metal toxicity and biodiversity in serpentine soils: Application of bioassay tests and microarthropod index. *Chemosphere*, 90(3), 1267–1273.

- Vitousek, P. M. (1998). Foliar and Litter Nutrients, Nutrient Resorption, and Decomposition in Hawaiian *Metrosideros polymorpha*. *Ecosystems*, 1(4), 401–407.
- Weis, J. S., & Weis, P. (2004). Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration. *Environment International*, 30(5), 685–700.
- Williams, & Mattson. (1980). Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 119–161.
- Wright, I. J., & Westoby, M. (2003). Nutrient concentration, resorption and lifespan: leaf traits of Australian sclerophyll species. *Functional Ecology*, 17(1), 10–19.
- Yang, X., Feng, Y., He, Z., & Stoffella, P. J. (2005). Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18(4), 339–353.

Chapitre IV

*La pollution métallique des sols peut induire
une amélioration de la qualité des feuilles et
des litières*



Préambule

Dans le chapitre I, nous avons mis en évidence l'existence d'un effet indirect de la pollution des sols sur les processus de la décomposition de la litière via des modifications de la qualité de la litière de *Populus tremula* (i.e. diminution de la teneur en lignine). Par ailleurs, le chapitre III a également mis en évidence pour le même site d'étude pollué une amélioration de la qualité de la litière de trois autres espèces végétales : *Quercus petraea* (Maat.), *Alnus glutinosa* (L.) et *Betula alba* (L.). Le site pollué étudié s'avérait être un bassin de décantation de boues de haut fourneau, site qui en plus d'être caractérisé par d'importantes teneurs en éléments traces métalliques (ETM) avait également d'autres propriétés physico-chimiques particulières. Il a donc été difficile de dissocier l'effet de la pollution des autres paramètres physico-chimiques du sol sur la qualité de la litière. L'objectif principal de ce chapitre a été d'évaluer l'effet de deux ETM fréquemment trouvés dans les friches industrielles, le Cd et l'As, sur la qualité de la litière de *Populus trichocarpa*. Pour cela, une expérimentation en conditions contrôlées a été réalisée à l'aide d'un sol artificiel pollué avec ces deux ETM séparément ou non pollué, dans lequel ont été mises à croître des boutures. Pour avoir une meilleure compréhension des mécanismes pouvant affecter la qualité de la litière, des traits de qualité des feuilles matures ont aussi été étudiés. Cela nous a également permis d'envisager les conséquences de la pollution des sols sur les consommateurs de ces feuilles, à savoir les herbivores. De plus, la moitié de nos pots expérimentaux a été inoculée avec des champignons endomycorhiziens afin d'évaluer leur contribution dans les effets éventuels des ETM sur la qualité des feuilles et litières. En effet, la majorité des arbres, dont *Populus trichocarpa*, développe naturellement des mycorhizes. Ces dernières sont en effet connues pour influencer l'acquisition des minéraux du sol, dont les ETM, mais également pour avoir une influence sur les mécanismes de défense des végétaux.

**Manuscrit d'article : La pollution métallique des sols peut induire une
amélioration de la qualité des feuilles et des litières, modulée par la
présence de champignons endomycorhiziens.**

En préparation

Résumé

Les polluants du sol, dont les éléments traces métalliques (ETM), ont un effet délétère sur les arbres qui se développent sur ces sols et en particulier sur leurs feuilles, qui constituent avec les litières qu'elles forment un flux majeur d'énergie et de nutriments dans l'écosystème. L'effet subit par les feuilles pourrait induire une modification des propriétés définissant la qualité des feuilles et de la litière qu'elles formeront (*i.e.* teneur en nutriments, en lignine ou en composés phénoliques). Ainsi, sous l'effet de ces modifications de qualité mais également sous l'effet de la présence d'ETM dans la ressource, les consommateurs, c'est-à-dire les herbivores et les consommateurs de la litière (faune détritivore et microorganismes décomposeurs), peuvent être affectés par les polluants via la consommation de cette ressource.

L'objectif de cette étude a été d'étudier l'effet de deux ETM, l'arsenic et le cadmium, sur la qualité des feuilles et des litières produites par *Populus trichocarpa* en considérant que les ETM pouvaient agir sur cette qualité en (1) s'accumulant dans ces ressources et en (2) modifiant des traits de la qualité du fait des effets délétères et des réactions de défense qu'induisent ces polluants. Par ailleurs, du fait que 90 % des arbres produisent des mycorhizes et que celles-ci agissent sur les végétaux, entre autres en augmentant leur résistance aux stress métalliques, nous avons également étudié la contribution des mycorhizes à l'effet des ETM sur la qualité de la ressource. Notre étude a permis de montrer que le Cd comme l'As induisaient une amélioration des traits de qualité de la ressource, notamment les teneurs en

azote, en phosphore, en composés phénoliques et en moindre mesure en lignine. Toutefois, cet effet bénéfique des ETM sur la qualité a été modéré par une accumulation systématique des ETM dans la ressource. La présence des mycorhizes a également modéré l'effet bénéfique des ETM sur la qualité, à la fois en limitant l'effet observé sur les composés phénoliques et la lignine, et également en accentuant l'accumulation des ETM dans la ressource.

Introduction

Qualité des feuilles et litières

Les feuilles et les litières qui en résultent constituent un flux majeur d'énergie et de nutriments entre les plantes et leur environnement. Les paramètres physico-chimiques des feuilles et des litières déterminent leur qualité, influençant ainsi à la fois les herbivores consommant les feuilles et les acteurs de la décomposition de la litière : les détritivores et les microorganismes décomposeurs (Aerts, 1997). Une nourriture de mauvaise qualité altère la croissance, la reproduction, ainsi que la consommation des consommateurs (Frost et al., 2005; Raubenheimer et al., 2009), ce qui peut mener à un effet délétère sur le cycle des nutriments (Wagner et al., 2013) à travers l'altération de processus tels que la décomposition de la litière de feuilles (Lecerf & Chauvet, 2008).

Ainsi, les feuilles et litières seront de meilleures qualités si leurs teneurs en azote et phosphore sont élevées du fait du caractère limitant de ces deux éléments pour la faune et les microorganismes (Aerts, 1997; Qualls & Richardson, 2000; Agren et al., 2001; Güsewell & Verhoeven, 2006). Par ailleurs, la teneur en lignine, forme de carbone particulièrement réfractaire, sera quant à elle inversement corrélée à la qualité de la ressource (Meentemeyer, 1978; Hobbie, 2000; Austin & Ballaré, 2010). A côté de ces paramètres de la qualité de la ressource, les composés phénoliques tiennent un rôle central, en particulier les tanins

condensés et les glycosides phénoliques. Les glycosides phénoliques représentent la classe majoritaire de composés phénoliques dans la famille des Salicaceae (peuplier, saule,...), avec des teneurs foliaires pouvant atteindre 30% de la masse de matière sèche (Donaldson et al., 2006). De nombreux effets délétères de ces composés sur les insectes herbivores tels que la diminution de la survie ou de la production d'œufs ont été observés et résumés dans la revue de Boeckler et al. (2011). Dans le cas des tanins condensés, l'augmentation de leur teneur foliaire lors de la consommation des feuilles par les consommateurs laisse également supposer un effet délétère sur les herbivores (Peters & Constabel, 2002; Stevens & Lindroth, 2005). L'effet des tanins sur la qualité de la ressource résulte de deux propriétés de ces composés. La première est leur capacité à précipiter les protéines (Niehaus & Gross, 1997). De ce fait, une fois dans le système digestif des consommateurs, ces composés peuvent induire une précipitation des enzymes digestives, ce qui a pour conséquence d'affecter négativement la digestion de ces organismes (Niehaus & Gross, 1997; Hagerman, 2002; Schweitzer et al., 2004). Par ailleurs, les tanins inhibent également le développement de champignons impliqués dans la décomposition de la litière (Harrison, 1971; Schmidt et al., 2013). Il se pourrait que cet effet soit lié à une seconde propriété de ces composés, qui est leur capacité à séquestrer les métaux essentiels tels que le cuivre et le zinc, les rendant ainsi moins disponibles pour les organismes du sol (Vitousek et al., 1994). Du fait de ces différentes propriétés des tanins, il en découle que la qualité de la ressource est inversement corrélée à sa teneur en tanins (Hättenschwiler & Vitousek, 2000; Schweitzer et al., 2004; Graça et al., 2005).

Effets des ETM sur les végétaux : Toxicité et mécanismes de défense

En France, la pollution des sols par les éléments traces métalliques (ETM) est un enjeu majeur, avec plus de 1300 sites suivis par le ministère de l'écologie, du développement durable et de l'énergie (base de données Basol, 2015). Les ETM présentent une grande variabilité d'effets délétères sur les végétaux, dépendant entre autre de la nature du polluant (O'Connell et al., 2008). On peut notamment citer une diminution de l'activité photosynthétique et de la respiration, une inhibition de l'acquisition de l'eau et des nutriments et également un stress oxydatif (Kieffer et al., 2008 ; Durand et al., 2010 ; Gallego et al., 2012 ; Zhang et al., 2014). Cela peut se traduire par des effets délétères sur la morphologie des végétaux, avec une diminution de l'élongation racinaire et de la croissance en générale et également une chlorose des feuilles (Lambers et al., 2008; Nagajyoti et al., 2010).

Afin de palier ces effets délétères, les végétaux ont développé de nombreux mécanismes de résistance. Ces mécanismes se répartissent en 2 groupes majoritaires : 1) l'exclusion ou la limitation de l'entrée du polluant dans l'organisme et 2) l'ensemble des processus de tolérance (Lambers et al., 2008). Parmi les processus de tolérance se trouvent notamment les mécanismes de séquestration combinant la chélation des métaux par les phytochélatines ou les métallothionéines et la compartimentation cellulaire (souvent dans les vacuoles) permettant une diminution de la toxicité de ETM (Hall, 2002; Pal & Rai, 2010; Hassinen et al., 2011). Parmi les composés phénoliques, les tanins interviennent également dans la séquestration des ETM en les chélatant (Vitousek et al., 1994) et participent à la lutte contre le stress oxydatif du fait de leur pouvoir antioxydant (McDonald et al., 1996; Hagerman et al., 1998; Barbehenn & Constabel, 2011). De ces mécanismes de séquestration résulte, notamment pour les peupliers, une accumulation des ETM dans les tissus des végétaux, conduisant à la production de feuilles et de litières pouvant contenir de fortes concentrations en polluants (Pottier et al.,

2015). Par exemple, dans le cas du Cd, les teneurs dans les litières peuvent varier entre 0,3 et 1,2 mg cm⁻² pour 14 géotypes différents de peuplier (Pottier et al., 2015).

Du fait des effets délétères des ETM mais également de la mise en place des mécanismes de défense, les paramètres de qualité peuvent se trouver impactés par la pollution des sols. Il a notamment été montré qu'en présence de métaux, la teneur en composés phénoliques et en particulier en lignine pouvait se trouver augmentée (Kieffer et al., 2008 ; Elobeid et al., 2012). Cela peut conduire à un effet négatif sur la qualité des feuilles et litières. Par ailleurs, une perturbation des teneurs en azote et phosphore des feuilles a également été observée avec notamment une augmentation de la teneur en azote (McEnroe & Helmisaari, 2001).

L'accumulation d'ETM dans les feuilles et les litières, combinée aux modifications des caractéristiques physico-chimiques induites par leur toxicité et les mécanismes de défense, laisse à penser que la pollution des sols par les ETM pourrait entraîner une diminution de la qualité de la ressource.

Contribution des champignons endomycorhiziens

Les champignons endomycorhiziens colonisent la majorité des végétaux terrestres dans une grande variabilité de conditions climatiques et permettent à la fois d'augmenter l'acquisition de l'eau et des nutriments par les plantes et la tolérance aux facteurs de stress (Bothe et al., 2010; Smith & Read, 2010). Dans le cas d'une pollution aux ETM, les endomycorhizes permettent une augmentation de la tolérance du peuplier à la pollution, avec notamment le maintien de sa croissance (Cicatelli et al., 2010) et une diminution de l'effet néfaste sur l'élongation racinaire (Todeschini et al., 2007; Lingua et al., 2008). Par ailleurs, il a également été observé une stimulation des systèmes de défense, avec notamment une augmentation de la production de phytochélatines par les champignons mycorhiziens (Pallara et al., 2013). De ces modifications des mécanismes de séquestration découle une gestion des

ETM différente en présence de mycorhizes, avec notamment une accumulation plus forte de ces derniers dans la plante mais un transfert plus faible dans les parties aériennes dans le cas du peuplier (Cicatelli et al., 2010, 2014). Plus particulièrement, dans le cas d'une pollution à l'As, de nombreuses études résumées dans la revue de (Smith et al., 2010) ont montré un effet des mycorhizes positif ou négatif sur l'accumulation de cet ETM dans les plantes.

Les ETM sont donc susceptibles d'influencer la qualité de la ressource du fait de leur accumulation dans cette ressource et des modifications éventuelles de la qualité de celle-ci. Du fait que les champignons mycorhiziens peuvent à la fois modifier l'accumulation des ETM dans la plante, la résistance de ces plantes au stress, et augmenter l'acquisition des nutriments, ces champignons ont un fort potentiel dans la modulation des effets des ETM sur la qualité des feuilles et des litières.

Objectifs

L'objectif principal de cette étude a été de déterminer quel était l'effet de la pollution du sol sur la qualité des feuilles et des litières. Pour cela, nous avons émis l'hypothèse que les ETM pouvaient affecter cette qualité par 1) une forte teneur en polluants dans la ressource et 2) par une modification des traits de la qualité du fait des effets délétères et des réactions de défense qu'induisent ces polluants. Nous nous sommes en particulier focalisés sur les composés phénoliques qui sont à la fois impliqués dans les réactions face au stress métallique et dans la lutte contre l'herbivorie. Par ailleurs, un second objectif a été d'étudier la modulation qu'apportaient les champignons endomycorhiziens à l'effet des ETM sur la qualité de la ressource du fait de leur influence à la fois sur l'acquisition des nutriments et sur les mécanismes de défense face au stress métallique.

Pour ce faire, nous avons évalué la qualité des feuilles matures et sénescents de boutures de *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray), connu pour sa capacité à accumuler les métaux dans ses

feuilles (Pottier et al., 2015). Ces boutures ont été exposées pendant une saison de végétation à une mono-pollution en As ou en Cd, ETM trouvés sur un très grand nombre de sites pollués sur le territoire français (base de données Basol, 2015). La contribution des mycorhizes a été étudiée en ensemençant la moitié des pots contenant les peupliers avec le champignon endomycorhizien *Rhizophagus irregularis*.

Matériel et méthodes

Conditions de culture

L'expérimentation a été réalisée durant l'année 2014 sur la dalle expérimentale du laboratoire LIEC (49°6' N, 6° 12' E, 193 m d'altitude). En mars 2014, 42 boutures de *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray) ont été plantées dans des pots en plastique de 5 l puis placées sur la dalle expérimentale. Chaque pot contenait un mélange de 1:2 (v/v) de terreau : sable additionné d'une solution fertilisante permettant d'obtenir les teneurs en minéraux indiquées dans le Tableau 5.1. Durant la période expérimentale, de mars à novembre 2014, la température moyenne atmosphérique a été de 14,9°C et les boutures ont reçu une précipitation totale de 489 mm (données station météoFrance, 2014). Afin de maintenir une humidité du sol de 60% de sa saturation en eau, trois arrosages par semaine à l'eau déminéralisée ont été réalisés.

Tableau 5.1 Teneur et forme des différents éléments apportés en solution dans les sols

Composition minérale du sol		
Éléments	Formules chimiques	Teneurs élémentaires en g.kg ⁻¹ sol sec apportées en solution
Cadmium	CdCl ₂	30
Arsenic	As ₂ O ₅	25
Azote	NH ₄ NO ₃	1,57
Phosphore	KH ₂ PO ₄	0,76
Potassium	KH ₂ PO ₄	0,97
Calcium	CaCl ₂	1,75
Magnésium	MgSO ₄	1,07
Fer	Fe ₂ (C ₄ H ₄ O ₆) ₃	0,01
Soufre	MgSO ₄	1,41

Lors de la plantation des boutures, un tiers des sols a été additionné d'une solution de chlorure de cadmium à 8,85 g L⁻¹ pour atteindre une concentration finale dans le sol de 30 mg kg⁻¹ de sol sec. Quatorze autres pots ont été additionnés d'une solution d'oxyde d'arsenic (V) à 56,6 g L⁻¹ afin d'atteindre une teneur dans les sols de 25 mg kg⁻¹ de sol sec. Enfin, le dernier tiers des boutures n'a subi aucun ajout de polluant.

Pour chacune des trois modalités de pollution, la moitié des pots, soit sept, a étéensemencée avec environ 2000 spores de champignons endomycorhiziens *Rhizophagus irregularis* en solution liquide.

Le débourrement des boutures a eu lieu en moyenne 36 jours après la plantation, durant la première quinzaine d'avril. Parmi les 42 boutures initialement plantées, quatre n'ont pas débourré, ce qui s'est traduit par un nombre de réplicats par modalités allant de 5 à 7 individus répartis selon le plan expérimental décrit par la Figure 5.1. L'ensemble des analyses effectuées lors de cette expérimentation a été résumé dans la Figure 5.2 et détaillé dans la suite de ce chapitre.

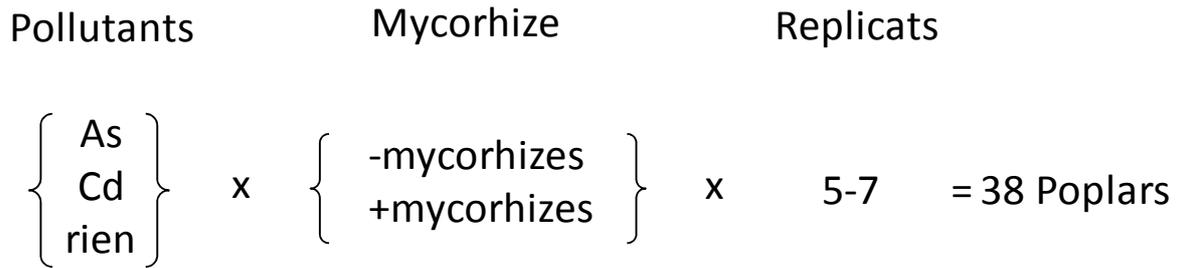


Figure 5.1 Description du plan expérimental suivi lors de la réalisation de cette expérimentation.

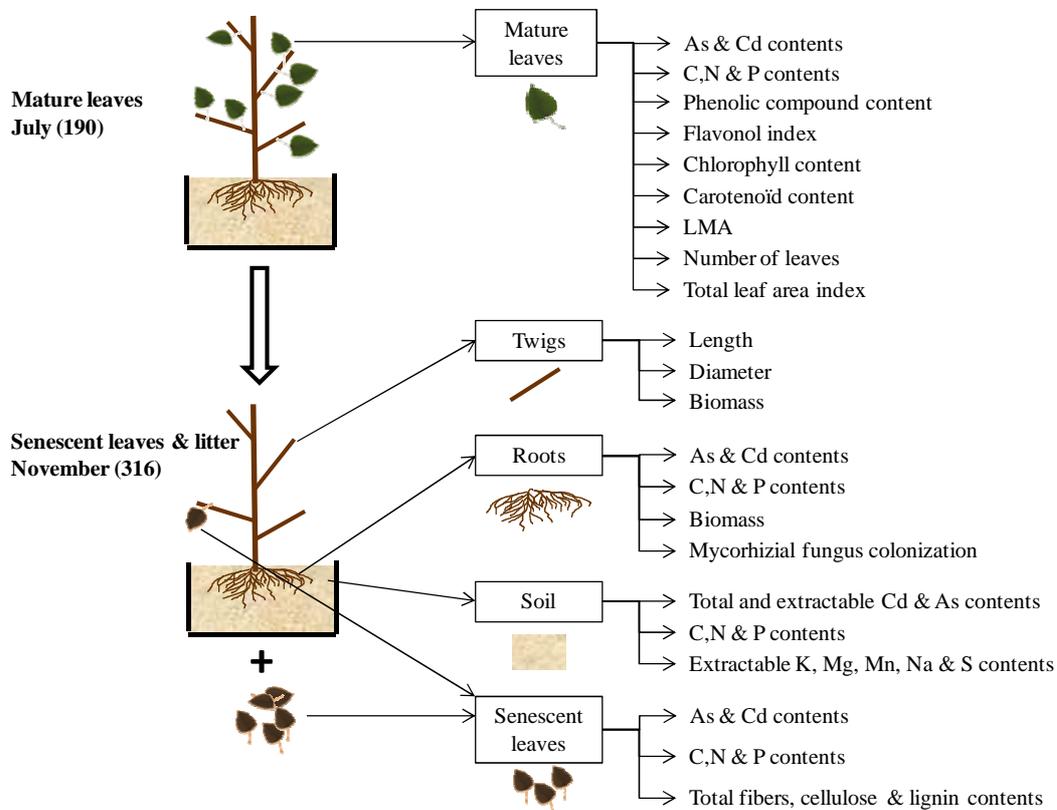


Figure 5.2 Schéma descriptif des différentes analyses effectuées sur les boutures de peuplier.

Récolte des feuilles

En juillet 2014, 83 jours après plantation des boutures, deux feuilles de la branche dominante ont été prélevées sur chacune des 38 boutures ayant débourrées. La première feuille était la 3^{ème} ou 4^{ème} à partir de l'apex et la seconde en 7^{ème} ou 8^{ème} position. Directement après récolte, chaque feuille a été découpée en trois fragments : limbe gauche, limbe droit et nervure centrale. Juste après la découpe des feuilles, une photographie de chacune des parties a été réalisée puis les feuilles ont été directement mises dans l'azote liquide pour les congeler. Les 3 fragments ont ensuite été stockés à -80 °C en vue de leurs analyses futures. Les limbes gauches ont été lyophilisés puis broyés pour les analyses décrites ci-après. Les limbes droits, quant à eux, ont été utilisés dans le cadre d'analyses biomoléculaires (en cours et non réalisées dans le cadre de ce travail de thèse). Afin d'avoir une quantité de matière suffisante pour la réalisation de l'ensemble des analyses, les limbes gauches des deux feuilles de chaque plante ont été assemblés en un lot.

Parallèlement à la récolte de feuilles, environ 50 g de sol ont été prélevés dans chaque pot puis séchés à l'étuve à 70 °C pendant 48 h. Le sol a été prélevé à la surface du pot en ayant enlevé au préalable la couche de surface (environ 5 mm) sur laquelle s'étaient développées quelques plantules. Le sol sec a ensuite été tamisé à 2 mm puis broyé.

Récolte des boutures

A partir de septembre 2014, les feuilles sénescentes ont été récoltées à l'aide de filets individuels installés sur chaque plante. Le 12 novembre 2014, soit 209 jours après plantation, les dernières feuilles sénescentes non encore tombées ont été prélevées et l'ensemble des plantes a été récolté. Chaque plante a été abondamment nettoyée à l'eau déminéralisée afin de retirer toutes les particules de sol. Après nettoyage, le chevelu racinaire, la bouture et les tiges

de l'année ont été séparés puis ont été séchés à l'air libre pendant 2 mois. Lors de la récupération des racines, environ 5 g de biomasse fraîche ont été récupérés. Afin d'éviter la contamination (métaux, nutriments minéraux) par les particules de sol, ces échantillons de racines ont été lavés avec une solution de chlorure de calcium à 5 mol L⁻¹ pendant 5 minutes sous agitation puis abondamment rincés à l'eau déminéralisée. Ces échantillons ont ensuite été séchés à l'étuve à 70 °C pendant 48 h puis broyés. Par ailleurs, 2 g frais de chevelu racinaire ont également été prélevés afin d'évaluer le taux de colonisation par les champignons.

Après homogénéisation, 50 g de sol ont été prélevés dans chaque pot avant d'être séchés à l'étuve à 70 °C pendant 48 h, tamisés à 2 mm, puis broyés.

Analyses élémentaires

Les analyses élémentaires décrites ci-après ont été réalisées sur le sol récolté en novembre 2014, sur les feuilles et les racines nettoyées au chlorure de calcium.

Les teneurs en C et N ont été déterminées vial'analyseur Carlo-Erba NA 2100, en utilisant 2,5 mg de poudre végétale et 3,5 mg de sol broyé. La minéralisation du phosphore organique a été effectuée sur 3 mg de végétaux ou 3,5 mg de sol sec, dans un mélange d'hydroxyde de sodium 1 N et de persulfate de sodium 0,5 M placé à l'autoclave à 120°C et 1 bar pendant 2 heures. Une quantification spectrophotométrique basée sur la norme AFNOR (1990) a été réalisée à l'aide d'un automate (Konelab 420-XTi, 169 Thermofischer). L'arsenic et le cadmium ont été extraits des broyats par minéralisation des poudres dans une solution d'acide nitrique à 35 % pendant 24h. Les minéralisats ont ensuite été dosés en utilisant un spectromètre d'absorption atomique avec un atomiseur en flamme pour l'arsenic (Perkin-Elmer, AAnalyst 100) et avec un atomiseur à four pour le cadmium (Varian, spectra 300). Les minéralisations ont été réalisées sur 500 mg de sol sec et, hormis pour les feuilles, avec 200

mg de poudre végétale sèche. Dans le cas des feuilles, 50 mg de matière sèche ont été utilisés afin d'avoir suffisamment de matériel pour l'ensemble des analyses.

En plus de ces analyses élémentaires a été réalisée une mesure des teneurs extractibles en Cd, As, K, Mg, Mn, Na et S dans 4,5 g de sol frais prélevés à la fin de l'expérimentation. Pour cela, ces éléments ont été extraits du sol à l'aide d'une solution de chlorure de calcium à 10 mM sous agitation (40rpm) pendant 2 h et à température ambiante. La suspension obtenue a été filtrée avec des filtres sans cendres puis à l'aide de filtres de 0,45 µm. Le filtrat a été acidifié à l'aide d'acide nitrique à un pourcentage final de 2 % puis analysé par ICP-OES (iCAP 6000 series, Thermoscientific).

Composés phénoliques totaux et pigments

L'évaluation des teneurs en composés phénoliques totaux et en pigments photosynthétiques (chl a, b, caroténoïdes) a été effectuée sur les poudres de feuilles vivantes prélevées en juillet 2014. Les composés phénoliques totaux de 5 mg de poudre de feuilles sèches ont été extraits à l'aide d'une solution de méthanol à 70 %. L'extraction a été réalisée sous agitation pendant 2h à 16°C selon des cycles de 2 minutes sous agitation à 1300 rpm et 2 minutes de repos. Les extraits ont ensuite été centrifugés à 13000 rpm pendant 10 minutes à 16°C. Le dosage des composés phénoliques totaux contenus dans le surnageant a été réalisé selon la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu, telle que décrite dans (Box, 1983), en utilisant une solution d'acide tannique comme étalon.

Afin d'évaluer les teneurs en chlorophylle et caroténoïdes, une autre extraction a été réalisée avec 1 mg de poudre végétale sèche selon un protocole adapté de (Cartelat et al., 2005). Les composés ont été extraits à l'aide d'une solution de méthanol pur à 70°C sous agitation à 1300 rpm pendant 30 minutes. Puis les extraits ont été centrifugés à 13000 rpm. Les teneurs en pigments dans le surnageant ont été mesurées par méthode spectrophotométrique. Les teneurs

en chlorophylle a et b ont été estimées à l'aide des équations de (Lichtenthaler, 1987) décrites ci-après, par lecteur d'absorbance à 652,4 nm et 665,2 nm. Les caroténoïdes ont été estimés par lecture d'absorbance à 470 nm à l'aide de la troisième équation.

$$Chloro_a (\mu g ml^{-1}) = 16,72 A_{665,2} - 9,16 A_{652,4}$$

$$Chloro_b (\mu g ml^{-1}) = 34,09 A_{652,4} - 15,28 A_{665,2}$$

$$Carotenoïde (\mu g ml^{-1}) = (1000 A_{470} - 3,27 Chloro_a - 104 Chloro_b / 229)$$

Entre juillet et août 2014, aux jours juliens 186, 203, 217, 230 et 251, un suivi des teneurs en flavonols et chlorophylle des feuilles a été réalisé. Ces mesures ont également été effectuées sur les deux feuilles récoltées au jour julien 190. Pour cela a été utilisé un Dualex (Scientific+, Force A), dont le principe de fonctionnement est décrit par (Goulas et al., 2004). Cet outil est constitué d'un boîtier et d'une pince formée par deux têtes optiques. La première possède 4 LED permettant d'émettre un rayonnement dans l'UV, le rouge, et deux dans le proche IR aux longueurs d'onde de 375, 650, 700 et 800 nm respectivement. La seconde tête optique mesure l'intensité du rayonnement IR entre 700 et 900 nm. A chaque date et pour chaque arbre, 10 feuilles vivantes ont été placées alternativement dans la pince de l'appareil. Une fois en contact avec la feuille, la pince a réalisé ces mesures sur une surface de 5 mm de diamètre. Afin d'estimer la teneur en flavonols, l'appareil a excité la feuille à 650 nm, longueur d'onde de référence qui n'est pas absorbée par les flavonols. La feuille a été excitée une seconde fois à 375 nm, ce qui correspond au pic d'absorption des flavonols. Pour chacune des longueurs d'onde, l'appareil a mesuré la fluorescence de la chlorophylle dans l'infrarouge. Le log ratio entre la fluorescence après l'excitation de référence et celle après excitation dans l'UV a permis de donner la quantité de rayonnement absorbée par les flavonols et donc d'estimer leur concentration. Afin de mesurer la teneur en chlorophylle de la feuille, cette dernière a été excitée à 700 nm, ce qui correspond au pic d'absorption de la chlorophylle. Puis la mesure de la teneur en chlorophylle a été réalisée par mesure de l'intensité du rayonnement transmis

de l'autre côté de la feuille. Afin de tenir compte du rayonnement réfléchi par la structure de la feuille, cette dernière a été excitée une seconde fois à 800 nm, longueur d'onde à laquelle la chlorophylle n'absorbe pas. La seconde intensité de rayonnement infrarouge transmis à travers la feuille permet de corriger la teneur en chlorophylle mesurée.

Lignine et cellulose

Les pourcentages massiques en fibres totales, cellulose et lignine des feuilles sénescents ont été estimés par moyen gravimétrique, en utilisant la méthode d'attaque détergent-acide sur 200 mg de feuilles sèches (Loranger et al., 2002). Une première attaque a été réalisée à l'aide d'un mélange de cetyltriméthylammonium bromide (CTAB) à 20 g L⁻¹ dans une solution d'acide sulfurique à 0,5 M. La matière ainsi extraite a été éluée à travers des creusets poreux de 7 µm. Cette première attaque a permis d'évaluer le pourcentage de fibres totales. La cellulose a été évaluée suite à une seconde attaque à l'acide sulfurique à 72 % (m : m). Enfin, le pourcentage de lignine a été estimé en pesant la quantité de cendres contenue dans la poudre végétale suite à un passage en four à moufle à 450°C pendant 3 h. L'ensemble des pourcentages a été calculé en fonction de la masse sèche sans cendres.

Mycorhizes

Une évaluation de la colonisation des racines par les champignons mycorrhiziens a été réalisée à partir des 2 g frais de chevelu racinaire prélevés à la fin de l'expérimentation. Les racines ont été clarifiées à l'aide d'un bain de KOH à 10 % (v/v) à 90 °C pendant 30 minutes. Elles ont ensuite été colorées durant une nuit au bleu de méthyle à 0,1 % dans une solution d'acide lactique à 85 % (v/v), puis décolorées dans un bain d'acide lactique à 25 % (v/v). Les fines racines ont été coupées en fragments de 1 cm puis placées sur lame avec de l'acide lactique à 85 % (v/v). Pour chaque plante, 75 fragments de racines ont été observés par microscopie. L'intensité de colonisation par les endomycorhizes a été déterminée selon la méthode précédemment décrite par (trouvelot et al., 1986).

Morphologie des boutures

Pour chaque bouture, une évaluation de la morphologie des feuilles a été réalisée. La détermination de la masse surfacique a été effectuée sur chacune des deux feuilles matures. La surface de chacune des feuilles photographiées lors de la récolte a été mesurée à l'aide du logiciel d'analyse d'images ImageJ. La masse surfacique a été calculée par le ratio entre la masse de la feuille sèche (en g) et la surface mesurée (en m²). Par ailleurs, la veille de la récolte des feuilles (en juillet), le nombre de feuilles de chaque plante a été compté.

Après séchage des tiges de l'année récoltées en novembre 2014, leur longueur totale a été mesurée ainsi que leur diamètre moyen. Enfin, après séchage des racines et des tiges de l'année, leurs biomasses totales ont été mesurées afin de déterminer le root :shoot ratio.

Analyses statistiques

Les effets de l'As et du Cd ont été évalués indépendamment l'un de l'autre sur l'ensemble des analyses effectuées sur les boutures. Pour cela, pour chaque variable mesurée, deux modèles ont été utilisés (un par ETM). L'analyse de ces modèles a ensuite été réalisée à l'aide d'une Anova à deux facteurs testant l'effet du polluant, de la mycorhization et de l'interaction des deux effets. Du fait que les données propres aux boutures témoins ont été utilisées pour chacun des deux modèles, une correction des p-values des Anova et des tests Post-Hoc de Tuckey a été nécessaire. Pour cela, nous avons effectué la correction de Bonferoni, que nous avons réalisé en doublant la valeur de l'ensemble des p-values et en gardant un seuil de significativité de 0,05. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R 2.15.2 (R Development Core Team, 2012).

Résultats

Gestion des métaux

Après 209 jours d'exposition, l'ensemble des peupliers exposés au Cd a montré une teneur racinaire moyenne de $169 \pm 50 \text{ mg kg}^{-1}$, ce qui représente un facteur de bioconcentration de 5,6 par rapport au 30 g kg^{-1} contenus dans le sol (Figure 5.3.a.). Dans le cas des peupliers exposés à l'As, ce facteur a été de 11,6, avec une teneur moyenne dans les racines en cet élément de $389 \pm 91 \text{ mg kg}^{-1}$ (Figure 5.3.c). Pour les deux ETM, aucune différence significative dans la teneur en ETM des racines n'est apparue entre les peupliers mycorhizés et ceux qui ne l'étaient pas (Figures 5.3.a et c).

Tout comme pour les racines, les deux ETM se sont accumulés dans les feuilles sénescentes pour atteindre une teneur en Cd de $78 \pm 21 \text{ mg kg}^{-1}$ de matières sèches et en As de $34 \pm 7 \text{ mg kg}^{-1}$. Par ailleurs, un effet positif des mycorhizes a été observé sur la teneur en As des feuilles sénescentes, avec une teneur de $40 \pm 4 \text{ mg kg}^{-1}$ en présence de mycorhizes contre seulement

$29 \pm 5 \text{ mg kg}^{-1}$ dans le cas contraire (Figure 5.3.d). Toutefois, aucun effet des mycorhizes n'a été observé sur les teneurs en Cd de ces feuilles. Pour le Cd, le facteur d'accumulation entre les racines et les feuilles sénescents a été en moyenne de 2,2. Dans le cas de l'As, ce facteur a été de 9,2 en présence de mycorhizes et de 14,2 en absence de celles-ci, soulignant un transfert vers les litières plus faible de l'ETM en présence de mycorhizes. Concernant les feuilles matures, les plantes exposées au Cd ont montré une teneur moyenne en Cd de $39 \pm 9 \text{ mg kg}^{-1}$ et celles exposées à l'As ont montré une teneur moyenne en As de $16 \pm 5 \text{ mg kg}^{-1}$. Ces teneurs ont systématiquement été plus faibles que celles mesurées dans les feuilles sénescents. Quelque soit l'ETM auquel ont été exposées les plantes, aucune différence sur les teneurs en métaux des feuilles n'a été observée en présence ou non de mycorhizes.

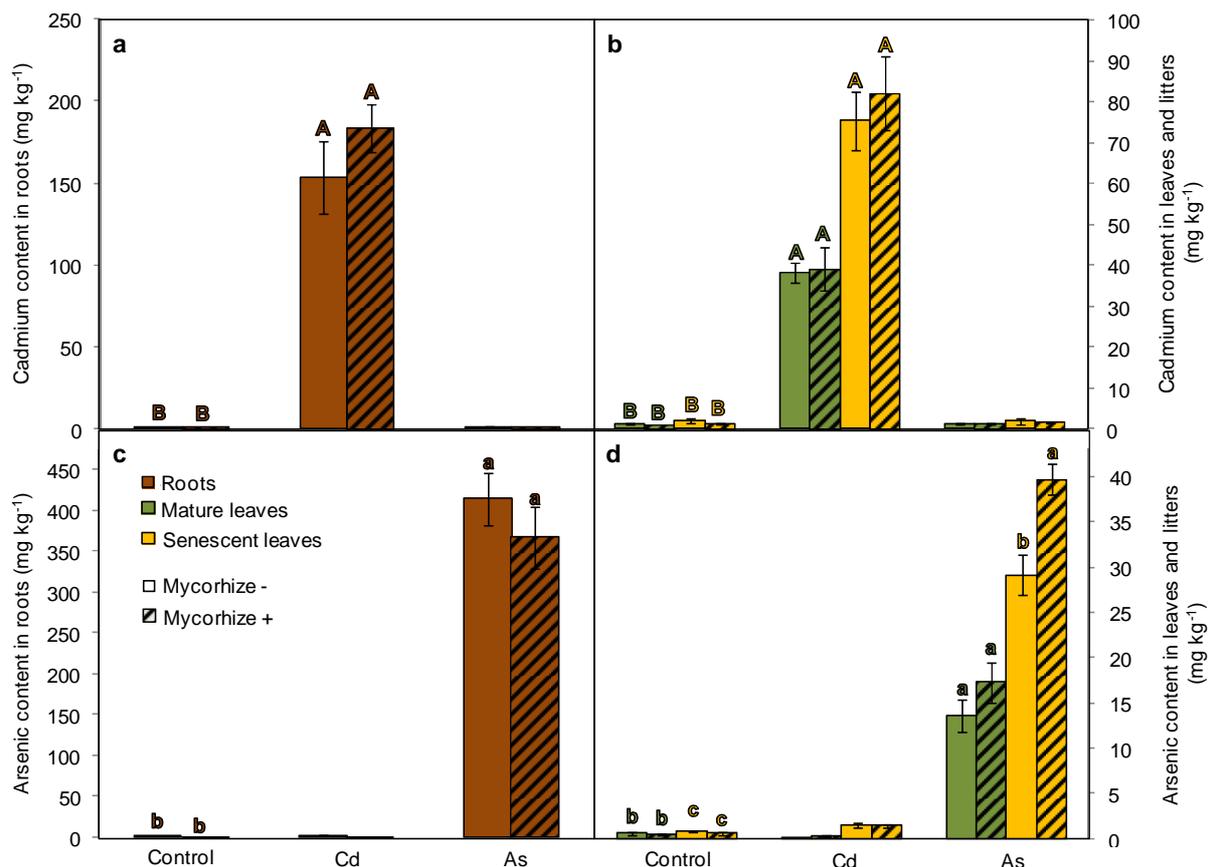


Figure 5.3 Effet des ETM du sol et de la mycorrhization sur les teneurs en ETM des peupliers. Les échelles entre les différents panneaux de la figure ne sont pas les mêmes. Sont représentées les teneurs moyennes \pm ES en cadmium des racines (a) des feuilles matures (b, barres vertes) et des feuilles sénescents (b, barres jaunes) pour les peupliers exposés à l'arsenic ou au cadmium et les peupliers témoins. Sont également représentées les teneurs moyennes \pm SE en arsenic des racines (c) des feuilles matures (d, barres vertes) et des feuilles sénescents (d, barres jaunes). Les barres hachurées représentent les valeurs moyennes en présence d'endomycorhizes. Les lettres indiquent une différence significative basée sur les tests de Tukey ($P < 0.05$) réalisés indépendamment les uns des autres pour chaque compartiment biologique et la couleur des lettres est associée à celle des compartiments. Au sein de chaque compartiment biologique, deux Post-Hoc indépendants ont été réalisés : un pour le modèle évaluant l'effet du cadmium (lettres en majuscule) et l'autre pour le modèle évaluant l'effet de l'arsenic (lettres en minuscule). Se référer à la section analyses statistiques pour plus de détails sur ces deux modèles. Lorsqu'aucun effet significatif n'est ressorti du test de Tukey, aucune lettre n'a été ajoutée.

Morphologie des boutures

La masse racinaire moyenne des peupliers témoins a été de $15,5 \pm 2,7$ g contre seulement $7,4 \pm 1,6$ g pour les peupliers exposés à l'As. Un effet significativement négatif de l'As sur la masse racinaire a donc été observé (Tableau 5.2). Du fait de la biomasse racinaire plus faible pour les peupliers exposés à l'arsenic, nous avons également observé un root :shoot ratio plus faible en présence d'As (Tableau 5. 2). Par ailleurs, les peupliers témoins et exposés à l'As ont également montré une masse racinaire plus faible en présence de mycorhizes. Dans le cas des plantes exposées au Cd, aucun effet de l'exposition à l'ETM ni des mycorhizes n'est apparu. Pour l'ensemble des autres traits morphologiques mesurés, aucun n'a montré de réponse, que ce soit vis-à-vis des ETM ou de la présence de mycorhizes.

Tableau 5.2 Résumé des résultats de l'analyse des deux modèles linéaires indépendants utilisés pour chacun des paramètres morphologiques mesurés sur les peupliers. Le premier modèle (Arsenic model)

visé à l'évaluation des effets de l'As, des mycorhizes et de leur interaction. Le second modèle (Cadmium model) vise à l'évaluation des effets du Cd, des mycorhizes et de leur interaction. Pour une description détaillée des modèles utilisés, se référer à la section « Analyses statistiques ». Pour chaque trait morphologique sont renseignées les valeurs moyennes \pm SE mesurées en présence d'As, de Cd, et pour les peupliers témoins. Abréviation : Df = degré de liberté de la variable, degré de liberté du modèle.

model effect of As and Cd on Morphology results											
		Mature leaves				Leaf litters					
		Number of leaves	LMA mean (g m ⁻²)	Chlorophyll assay (µg cm ⁻²)	Carotenoids (µg cm ⁻²)	mean twigs length (cm)	mean twigs diameter (cm)	shoot mass (g DM)	root mass (g DM)	R:S mass ratio	
Arsenic model											
<i>Mean (SE) values by site</i>	Control	Myco -	65 (5.9)	89.6 (9.1)	19.2 (1)	3.4 (0.33)	28 (3.6)	4.6 (0.27)	33.6 (3.5)	16.6 (1.5)	0.5 (0.05)
		Myco+	62 (1.8)	91.5 (3)	17.8 (1.9)	3.1 (0.31)	24 (3.5)	4.3 (0.31)	29.1 (2.8)	14.3 (0.7)	0.5 (0.04)
	As	Myco -	56 (11.6)	76.8 (3.6)	19.8 (1.7)	3.1 (0.49)	25 (3.4)	4.6 (0.29)	29.2 (1.6)	8.4 (0.5)	0.3 (0.01)
		Myco+	38 (6)	90.1 (11.2)	20.6 (2.5)	4 (0.51)	22 (1.3)	4.4 (0.26)	28 (1.3)	6.5 (0.6)	0.2 (0.02)
<i>Model summary</i>											
Arsenic effect	Df		1,20	1,20	1,19	1,19	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20
	F		5.54	0.70	0.81	0.49	0.79	0.15	1.25	89.6	69.6
	P		0.06	0.82	0.76	0.99	0.77	1.40	0.55	<.001	<.001
Mycorhize effect	Df		1,20	1,20	1,19	1,19	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20
	F		2.23	1.02	0.02	0.70	1.02	0.85	1.33	6.19	1.02
	P		0.30	0.65	1.78	0.83	0.65	0.73	0.53	0.04	0.65
Interaction effect	Df		1,20	1,20	1,19	1,19	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20
	F		1.08	0.50	0.33	1.83	0.02	0.10	0.51	0.06	0.96
	P		0.62	0.97	1.14	0.38	1.80	1.51	0.97	1.62	0.68
Cadmium model											
<i>Mean (SE) values by site</i>	Cd	Myco -	67 (10.6)	76 (6.4)	17.7 (1.8)	3.4 (0.32)	27 (4.9)	4.5 (0.48)	34.3 (3.7)	16.2 (1.3)	0.5 (0.04)
		Myco+	44 (9.1)	80.4 (8.6)	18.1 (1.3)	2.8 (0.3)	22 (3.5)	4.2 (0.28)	29.8 (2.6)	13.9 (1.7)	0.5 (0.04)
<i>Model summary</i>											
Cadmium effect	Df		1,21	1,21	1,21	1,21	1,21	1,21	1,21	1,21	1,21
	F		0.89	2.95	0.09	0.22	0.09	0.02	0.08	0.03	0.40
	P		0.71	0.20	1.53	1.29	# 1.53	1.77	1.56	1.72	1.07
Mycorhize effect	Df		1,21	1,21	1,21	1,21	1,21	1,21	1,21	1,21	1,21
	F		2.90	0.21	0.06	2.26	1.28	0.73	1.97	2.80	0.13
	P		0.21	1.30	1.60	0.30	# 0.54	0.81	0.35	0.22	1.44
Interaction effect	Df		1,21	1,21	1,21	1,21	1,21	1,21	1,21	1,21	1,21
	F		1.49	0.03	0.32	0.40	0.07	0.01	0.0003	0.0001	0.12
	P		0.47	1.73	1.16	1.07	# 1.59	1.81	1.97	1.99	1.45

Composition élémentaire

En présence d'As, la teneur racinaire en azote est significativement plus élevée, avec une moyenne de $1,04 \pm 0,17$ % contre $0,76 \pm 0,09$ % pour les peupliers témoins (Figure 5.4.a). Pour les feuilles matures, les teneurs en azote sont significativement plus élevées dans les feuilles des plantes exposées au Cd ($3,03 \pm 1,52$ %) que dans celles des témoins ($1,83 \pm 0,67$ %) (Anova : effet Cd : $P = 0,01$). Comme pour les racines, nous avons observé dans les feuilles sénescents des teneurs en azote plus élevées pour les peupliers exposés à l'As ($0,51 \pm 0,34$ %) que pour les peupliers témoins ($0,32 \pm 0,07$ %) (Figure 5.4.b. Anova : effet As : P -value = $0,004$). Dans le cas du Cd, la teneur moyenne en N dans les feuilles sénescents était également significativement plus élevée que celle des témoins, avec une valeur de $0,56 \pm 0,30$ % (Anova : effet Cd : $P = 0,05$). Seul un effet négatif de la présence des mycorhizes sur la teneur en azote des feuilles a été observé sur les peupliers témoins et exposés à l'As (5.4.b).

Les teneurs en phosphore des feuilles matures des peupliers ont été plus élevées lorsque les plantes étaient exposées à l'As ($0,29 \pm 0,03$ %) en comparaison des peupliers témoins ($0,25 \pm 0,04$ %) (Anova : effet As : $P = 0,05$). La teneur en phosphore mesurée dans les peupliers exposés a été de $0,35 \pm 0,13$ %, teneur qui n'a pas été significativement différente de celle mesurée pour les peupliers témoins (Anova : effet Cd : $P = 0,08$). Une diminution de la teneur en P a été observée entre les feuilles matures et sénescents. Cette diminution a été la plus forte pour les peupliers exposés au Cd (52 %), comparée à celle des peupliers exposés à l'As et les peupliers témoins (22 % et 24 % respectivement) (Tableau 5.2) Aucun effet des ETM ni des mycorhizes n'a été observé sur les teneurs en P des feuilles sénescents (Tableau 5.2).

Ces effets observés sur les teneurs en N et P se sont répercutés sur les ratios C :N et N :P (Figure 5.5). Avec des valeurs respectives de 44 ± 7 et de 100 ± 29 en présence d'As

le ratio C :N mesuré est plus faible dans les racines et les feuilles sénescents, par rapport aux témoins dont les ratios respectifs sont de 60 ± 7 et de 143 ± 30 . En présence de Cd, une diminution du C :N a également été observée dans les feuilles sénescents, avec une valeur moyenne de 97 ± 37 . Par ailleurs, le ratio des feuilles matures est également plus faible pour les peupliers exposés au Cd (19 ± 10) par rapport aux témoins (27 ± 9). En présence d'As, seul le N :P des racines a montré une réponse, avec un ratio moyen de $4,2 \pm 0,5$, significativement plus élevé que pour les peupliers témoins ($3,4 \pm 0,5$) (Anova : effet As: $P < 0,001$). Dans le cas d'une exposition au Cd, le N :P des feuilles sénescents ($3,4 \pm 1,7$) a été significativement plus grand que pour les témoins ($1,8 \pm 0,6$) (Anova : effet Cd : $P = 0,007$).

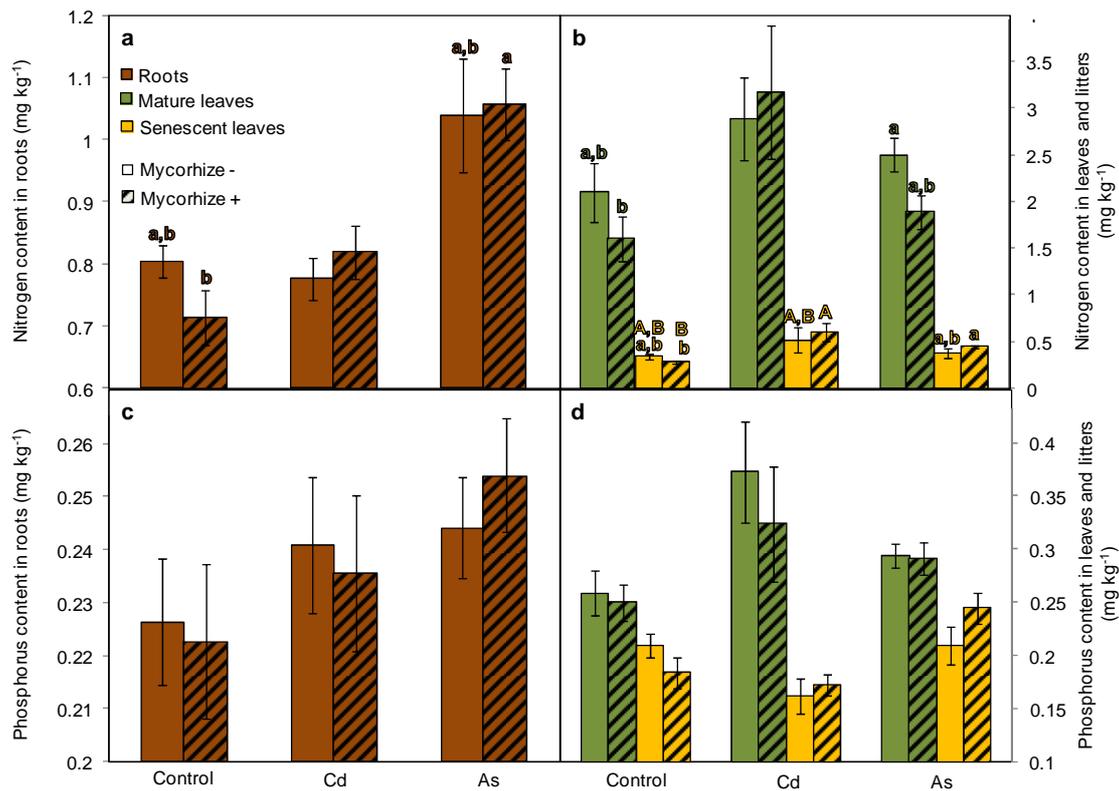


Figure 5.4 Effet des ETM du sol et de la mycorhization sur les teneurs en nutriments des peupliers.

Les échelles entre les différents panneaux de la figure ne sont pas les mêmes. Sont représentées les teneurs moyennes \pm ES en azote des racines (a) des feuilles matures (b, barres vertes) et des feuilles sénescentes (b, barres jaunes) pour les peupliers exposés à l'arsenic ou au cadmium et les peupliers témoins. Sont également représentées les teneurs moyennes \pm SE en phosphore des racines (c) des feuilles matures (d, barres vertes) et des feuilles sénescentes (d, barres jaunes). Les barres hachurées représentent les valeurs moyennes en présence d'endomycorhizes. Les lettres indiquent une différence significative basée sur les tests de Tukey ($P < 0.05$) réalisés indépendamment les uns des autres pour chaque compartiment biologique et la couleur des lettres est associée à celle des compartiments. Au sein de chaque compartiment biologique, deux Post-Hoc indépendants ont été réalisés : un pour le modèle évaluant l'effet du cadmium (lettres en majuscule) et l'autre pour le modèle évaluant l'effet de l'arsenic (lettres en minuscule). Se référer à la section analyses statistiques pour plus de détails sur ces deux modèles. Lorsqu'aucun effet significatif n'est ressorti du test de Tukey, aucune lettre n'a été ajoutée. Lorsqu'un effet significatif est ressorti de l'analyse par Anova mais que cet effet n'a pas été mis en valeur par le test de Tukey, plus restrictif, les résultats de l'Anova ont été précisés dans le texte.

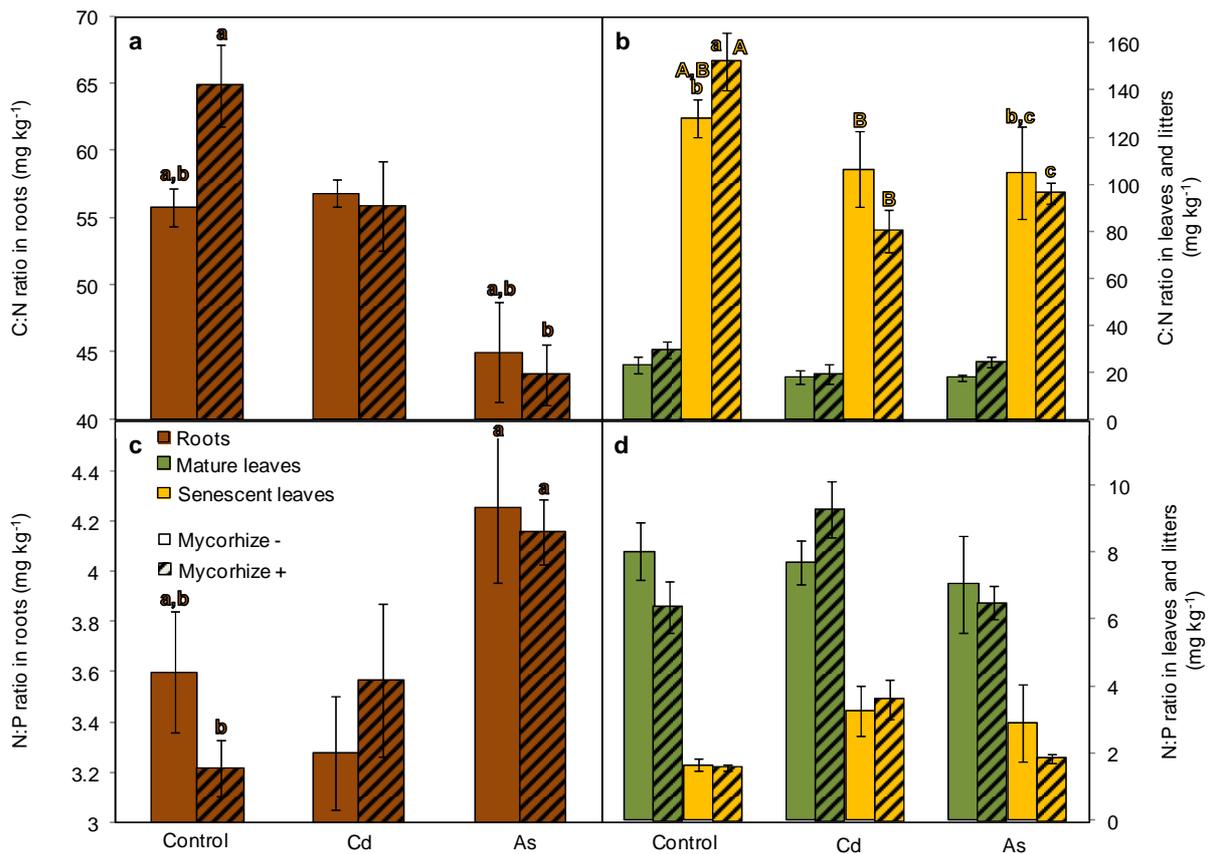


Figure 5.5 Effet des ETM du sol et de la mycorrhization sur le ratio C:N des peupliers. Les échelles entre les différents panneaux de la figure ne sont pas les mêmes. Sont représentés les ratios C:N moyens \pm ES des racines (a) des feuilles matures (b, barres vertes) et des feuilles sénescentes (b, barres jaunes) pour les peupliers exposés à l'arsenic ou au cadmium et les peupliers témoins. Sont également représentés les ratios N:P moyens \pm SE en arsenic des racines (c) des feuilles matures (d, barres vertes) et des feuilles sénescentes (d, barres jaunes). Les barres hachurées représentent les valeurs moyennes en présence d'endomycorhizes. Les lettres indiquent une différence significative basée sur les tests de Tukey ($P < 0.05$) réalisés indépendamment les uns des autres pour chaque compartiment biologique et la couleur des lettres est associée à celle des compartiments. Au sein de chaque compartiment biologique, deux Post-Hoc indépendants ont été réalisés : un pour le modèle évaluant l'effet du cadmium (lettres en majuscule) et l'autre pour le modèle évaluant l'effet de l'arsenic (lettres en minuscule). Se référer à la section analyses statistiques pour plus de détails sur ces deux modèles. Lorsqu'aucun effet significatif n'est ressorti du test de Tukey, aucune lettre n'a été ajoutée.

Teneurs en composés phénoliques

La teneur en composés phénoliques des feuilles matures a été plus faible en présence de Cd ($0,52 \pm 0,25 \mu\text{g cm}^{-2}$) que pour les peupliers témoins ($0,74 \pm 0,13 \mu\text{g cm}^{-2}$) (Figure 5.6.a). Les peupliers exposés à l'arsenic n'ont pas montré de différence significative par rapport aux peupliers témoins dans leurs teneurs en composés phénoliques (Anova : Effet As : $P = 0,45$). En présence de mycorhizes, les peupliers exposés à l'As et les peupliers témoins ont eu une teneur en composés phénoliques significativement plus grande qu'en absence de mycorhizes (Figure 5.6.a). Cela s'est traduit par une augmentation de cette teneur de 21 % pour les peupliers témoins et de 47 % pour les peupliers exposés à l'As. Dans le cas des peupliers exposés au Cd, aucun effet des mycorhizes n'a été observé (Anova : effet mycorhize : $P = 0,59$).

Une forte corrélation ($R^2 = 0,75$) a été observée entre les valeurs mesurées par le dosage des composés phénoliques totaux et l'indice flavonols fourni pour les mêmes feuilles matures par le Dualex (Figure 5.7.a). De ce fait, l'indice flavonols a montré des réponses aux ETM et aux mycorhizes similaires à celles observées avec la teneur en composés phénoliques (Figure 5.7.b). Le suivi de l'indice flavonols au cours du temps (Figure 5.7.a) mis en évidence que les effets observés au jour julien 190 (Figure 5.6.b.) disparaissent au cours du temps. Au jour julien 251, l'indice flavonols moyen par plante ne variait plus qu'entre 1,79 et 1,96, ce qui correspondait à des teneurs en composés phénoliques variant entre $0,84$ et $1,04 \mu\text{g cm}^{-2}$ (Figure 5.7.a.)

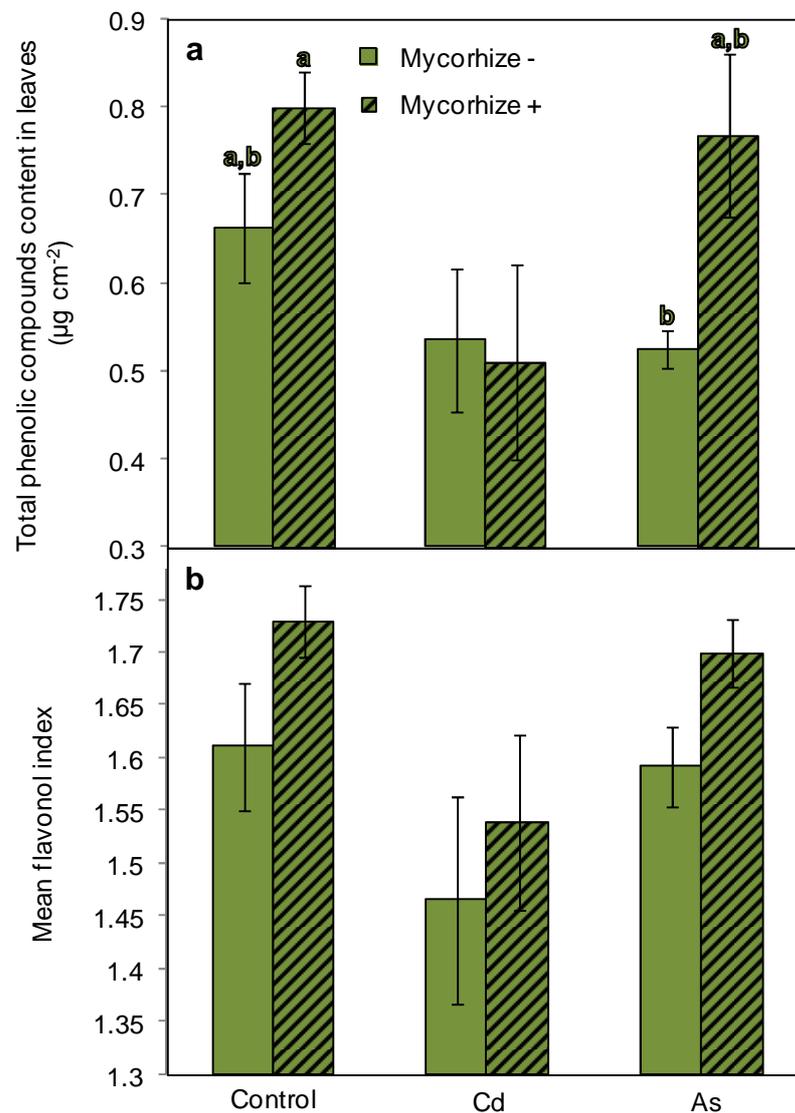


Figure 5.6 Effet des ETM du sol et de la mycorhization sur les teneurs en composés phénoliques des feuilles matures. Sont représentées les teneurs moyennes \pm SE en composés phénoliques totaux (a) et l'indice flavonols moyen mesuré à l'aide du Dualex sur les mêmes feuilles (b) en présence (hachures) ou absence d'endomycorhizes. Les lettres indiquent une différence significative basée sur les tests de Tukey ($P < 0.05$). Deux Post-Hoc indépendants ont été réalisés : un pour le modèle évaluant l'effet du cadmium (lettres en majuscule) et l'autre pour le modèle évaluant l'effet de l'arsenic (lettres en minuscule). Se référer à la section analyses statistiques pour plus de détails sur ces deux modèles.

Lorsqu'aucun effet significatif n'est ressorti du test de Tukey, aucune lettre n'a été ajoutée.

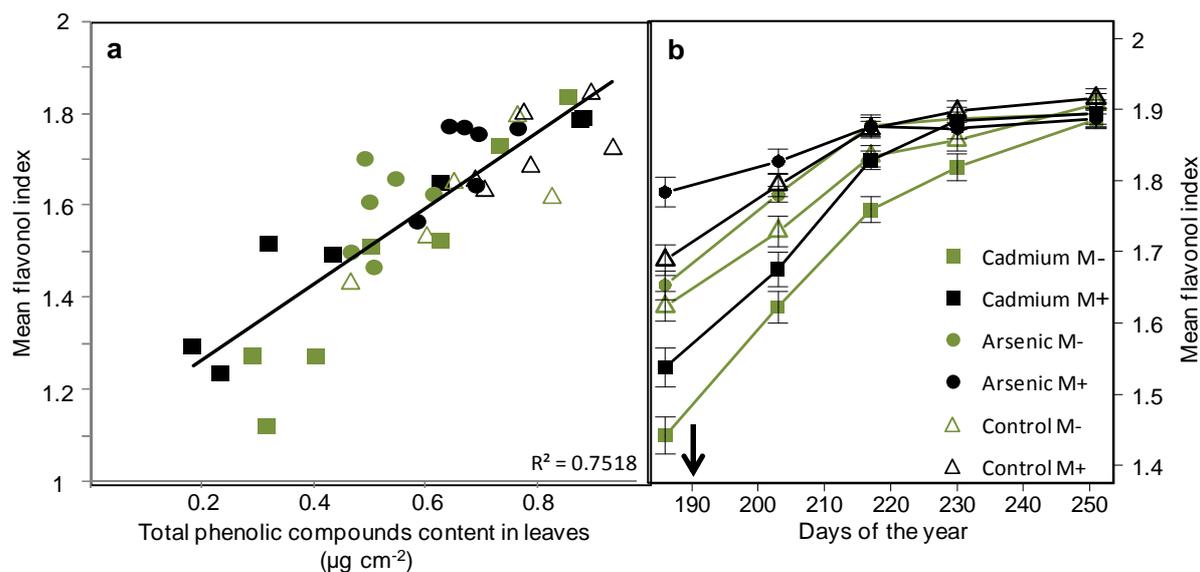


Figure 5.7 Effet des ETM du sol et de la mycorhization sur la dynamique de l'indice flavonols dans les feuilles. Est représentée la droite de régression entre la teneur en composés phénoliques totaux et l'indice flavonols moyen mesurés sur les feuilles matures au jour julien 190 (a). Est également représentée la dynamique de l'indice flavonols moyen \pm SE dans les feuilles des peupliers témoins (triangles vides), des peupliers exposés au cadmium (carrés pleins) et à l'arsenic (ronds pleins) en présence (symboles noirs) ou absence (symboles verts) d'endomycorhizes.

Fibres

Les teneurs en cellulose moyennes ont été de $16,6 \pm 2,5$, $16,1 \pm 1,6$ et de $17,1 \pm 2,3$ % pour le Cd, l'As et les témoins respectivement. Les teneurs en lignine moyennes ont été de $7,9 \pm 1,6$, $7,2 \pm 1,4$ et de $8,4 \pm 1,4$ % pour le Cd, l'As et les témoins respectivement. Aucun effet des polluants ni des mycorhizes n'est apparu comme étant significatif, aussi bien sur les teneurs en cellulose que sur les teneurs en lignine (Figure 5.8). Toutefois, dans le cas des teneurs en lignine, une tendance à un effet négatif de la présence des ETM sur cette teneur semble apparaître en absence de mycorhizes, en particulier en présence d'As (Anova : Effet As : P =

0,07). Par ailleurs, une tendance à un effet positif de la présence de mycorhizes sur la teneur en lignine apparaît également.

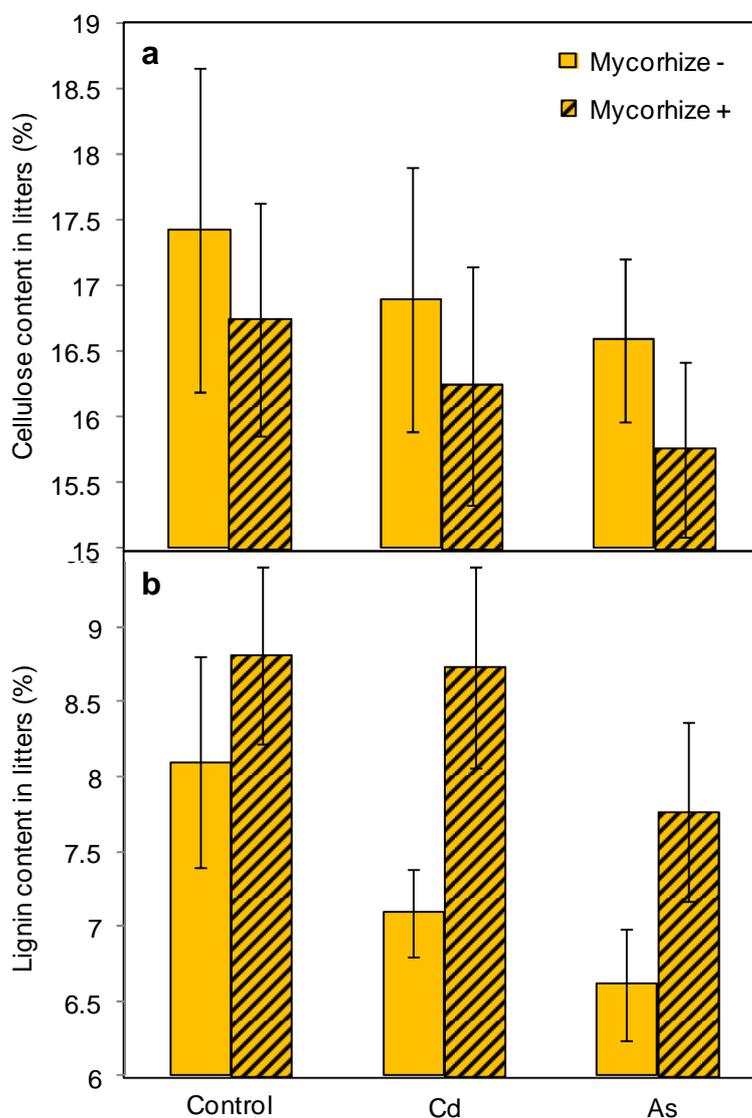


Figure 5.8 Effet des ETM du sol et de la mycorhization sur les teneurs en fibres des feuilles sénescents. Sont représentées les teneurs moyennes \pm ES en cellulose (a) et en lignine (b) des peupliers témoins, des peupliers exposés au cadmium et ceux exposés au cadmium en présence d'endomycorhizes (barres hachurées) ou non.

Discussion

Accumulation des ETM dans les feuilles

Qu'il s'agisse du Cd ou de l'As, les peupliers ont fortement accumulé les ETM dans l'ensemble de leur organisme et en particulier dans leurs racines. Ce résultat a déjà été observé de nombreuses fois pour ces ETM et d'autres tels que le Zn et le Cu (Todeschini et al., 2007 ; Lingua et al., 2008 ; Kieffer et al., 2008). Toutefois, la comparaison des facteurs de bioaccumulation nous a permis de constater qu'à l'échelle de l'organisme, l'As avait été plus accumulé que le Cd, notamment dans les racines. Les voies d'entrée différentes des deux ETM pourraient expliquer cette différence (Rascio & Navari-Izzo, 2011), avec notamment l'entrée importante de l'As par les transporteurs de phosphore (Meharg & Hartley-Whitaker, 2002).

Les ETM ont également été accumulés dans les feuilles matures et leurs teneurs ont augmenté dans les feuilles sénescentes, ce qui laisse à penser qu'aucune réassimilation n'a eu lieu lors de la sénescence. Dans le cas du Cd, Pottier et al. (2015) ont montré un résultat similaire avec le peuplier. Par ailleurs, dans de récents travaux, nous avons également montré que le Cd et le Zn n'étaient pas non plus réassimilés avec *Betula alba* (L.). La pollution des sols en As et Cd a donc un effet négatif sur la qualité des feuilles et des litières selon une première voie d'action qui est l'accumulation de ces ETM dans la ressource. En effet, la consommation de ressources contenant des ETM a, par voie trophique, des effets délétères sur les herbivores et les détritivores, tels que la diminution de la consommation (Hopkin et al., 1985), la perturbation du cycle de vie (Köhler et al., 1995) ou encore la diminution de la croissance des individus (Ma, 1988; Spurgeon & Hopkin, 1999; Spurgeon et al., 2000; Visioli et al., 2013).

Effets des ETM sur le développement des peupliers

Parmi l'ensemble des traits morphologiques des peupliers mesurés, seule la biomasse racinaire a montré un net déclin en présence d'ETM et plus particulièrement d'As. Cet effet a déjà été observé de nombreuses fois dans le cas de pollutions aux ETM en général (Lambers et al., 2008; Nagajyoti et al., 2010). Quoi qu'il en soit, les autres traits morphologiques mesurés n'ont pas été affectés par la pollution. Ce résultat est surprenant, notamment pour les traits propres à l'évaluation des effets sur la croissance (*i.e.* biomasse des parties aérienne et nombre de feuilles) et la teneur en chlorophylle, qui ont été montrés comme étant négativement affectés par la présence des ETM (Lambers et al., 2008; Durand et al., 2010; Nagajyoti et al., 2010; Gallego et al., 2012). Cela est d'autant plus surprenant que les teneurs en ETM du sol utilisées dans cette expérimentation sont du même ordre de grandeur que pour d'autres expérimentations dans lesquelles des effets ont été mesurés (Nagajyoti et al., 2010; Gallego et al., 2012).

Effets des ETM sur les traits de qualité

Les feuilles matures comme les feuilles sénescentes ont montré un effet positif des ETM sur les traits de qualité que nous avons mesuré. Toutefois, les traits concernés n'ont pas été les mêmes selon qu'il s'agissait de feuilles matures ou sénescentes et également selon l'ETM auquel étaient exposés les peupliers.

Dans le cas des feuilles matures, les teneurs en azote ont augmenté lors d'une exposition à l'As, ainsi que celle en phosphore en présence des deux ETM. Du fait du caractère limitant de ces deux composés pour les herbivores, ces augmentations se traduisent par une augmentation de la qualité des feuilles pour les consommateurs (Aerts, 1997; Qualls & Richardson, 2000; Agren et al., 2001; Gusewell & Verhoeven, 2006). Par ailleurs, la diminution de la teneur des

composés phénoliques en présence des deux ETM va également dans le sens d'une augmentation de la qualité des feuilles matures. En effet, les composés phénoliques et en particulier les tanins condensés et les glycosides phénoliques sont impliqués dans la lutte contre l'herbivorie (Peters & Constabel, 2002; Stevens & Lindroth, 2005; Boeckler et al., 2011).

Concernant les feuilles sénescents, là encore les teneurs en azote plus fortes observées dans les feuilles des peupliers exposés aux deux ETM tendent à une meilleure qualité. De plus, les teneurs en azote et phosphore dans ces feuilles ont mené à un changement de la qualité stœchiométrique, avec des ratios C :N plus faibles pour les deux ETM et également un N :P plus fort en cas d'exposition au Cd, ce qui peut également affecter la consommation des litières résultant de ces feuilles par les détritivores (Sturner & Schulz, 1998). Enfin, les peupliers exposés aux deux ETM ont également montré une tendance à des teneurs plus faibles en lignine dans leurs feuilles sénescents. Ce composé étant particulièrement récalcitrant à la décomposition (Gessner et al., 2010; Hättenschwiler & Jørgensen, 2010), sa teneur est inversement corrélée à la qualité de la ressource et donc au taux de décomposition (Meentemeyer, 1978; Hobbie, 2000; Austin & Ballaré, 2010).

Contribution des champignons endomycorhiziens

Les champignons endomycorhiziens ont montré une première contribution à la relation entre ETM et qualité des feuilles en augmentant le transfert de l'As des racines vers les feuilles. Ce résultat a été déduit de la plus faible concentration racinaire en As et de la plus forte concentration dans les feuilles sénescents en As pour les peupliers mycorhizés. Une diminution du transfert vers les parties aériennes a été observée dans le cas du Cu et du Zn avec des peupliers mycorhizés, résultat inverse à ce que nous avons observé avec l'As (Cicatelli et al., 2010). Ceci souligne toute la complexité de l'apport des mycorhizes dans la

gestion des ETM par les végétaux. Quoi qu'il en soit, nous avons également observé une tendance à une augmentation des teneurs de nos deux ETM dans le peuplier en présence des champignons, ce qui corrobore les observations similaires déjà réalisées avec le Cu et le Zn (Cicatelli et al., 2014). La contribution des mycorhizes irait donc ici dans le sens d'une diminution de la qualité de la ressource via une augmentation des teneurs en ETM.

Par ailleurs, nous avons également observé une augmentation de la production de composés phénoliques en présence des champignons. Des résultats similaires ont été observés pour un autre Salicaceae, *Salix purpurea*, avec une stimulation par un champignon endomycorhizien des voies de biosynthèse des flavonols, composés phénoliques apparentés aux tanins condensés (Aliferis et al., 2015). Dans notre expérimentation, cette augmentation ayant conduit à des teneurs similaires à celles des feuilles matures des peupliers témoins, l'effet positif des ETM sur la qualité des feuilles matures n'est plus vérifié en présence d'endomycorhizes. Nous avons observé que la teneur en lignine avait été peu affectée par la présence des ETM dans les feuilles sénescents des peupliers exposés aux ETM. Nous avons supposé ici que du fait de l'effet bénéfique des mycorhizes sur la résistance des plantes au stress (Bothe et al., 2010; Smith & Read, 2010), l'absence de ces mycorhizes induit une plus grande allocation du carbone et de l'énergie dans les systèmes de défense que dans la production de composés secondaires comme la lignine, ce qui explique les plus faibles teneurs en lignine uniquement en absence de mycorhizes. L'effet des mycorhizes sur les composés phénoliques, dont la lignine, a souligné, là encore, une diminution des effets bénéfiques des ETM sur la qualité de la litière en présence de champignons mycorhiziens.

Conclusion

L'objectif principal de cette étude a été d'évaluer les effets du Cd et de l'As, deux ETM fréquemment retrouvés dans les sols pollués, sur la qualité des feuilles matures et des litières. Il ressort de nos résultats que la qualité des feuilles comme de la litière est systématiquement améliorée en présence des deux ETM du fait de modifications des traits de qualité que nous avons mesuré. Les réponses mesurées ont été une augmentation des teneurs en azote et en phosphore, une diminution des teneurs en composés phénoliques et en moindre mesure une diminution de la teneur en lignine. En contrepartie de cet effet bénéfique, la forte accumulation des ETM dans les feuilles matures et sénescents suggère des effets délétères sur les herbivores comme sur les détritvives. Afin de déterminer l'effet réel sur les détritvives, une expérimentation de décomposition des litières produites par ces peupliers devrait être réalisée, permettant ainsi d'évaluer les deux voies d'action des ETM sur les consommateurs : l'accumulation des ETM dans la ressource et l'amélioration des traits de qualité. Par ailleurs, les composés phénoliques étant à la fois impliqués dans les défenses contre le stress métallique et contre l'herbivorie, une expérimentation de consommation de feuilles de plantes exposées aux ETM permettrait à la fois de déterminer l'effet des ETM sur la qualité des feuilles mais également d'évaluer l'effet des ETM sur l'induction de production de composés phénoliques par l'herbivorie. Enfin, nous avons aussi montré que le développement de mycorhizes a quant à lui partiellement diminué les effets positifs des ETM sur les traits de qualité, notamment en maintenant les teneurs en composés phénoliques et en lignine.

Références bibliographiques

- Aerts, R. (1997). Climate, leaf litter chemistry and leaf litter decomposition in terrestrial ecosystems: a triangular relationship. *Oikos*, 439–449.
- Agren, G. I., Bosatta, E., & Magill, A. H. (2001). Combining theory and experiment to understand effects of inorganic nitrogen on litter decomposition. *Oecologia*, 128(1), 94–98.
- Aliferis, K. A., Chamoun, R., & Jabaji, S. (2015). Metabolic responses of willow (*Salix purpurea* L.) leaves to mycorrhization as revealed by mass spectrometry and ¹H NMR spectroscopy metabolite profiling. *Frontiers in Plant Science*, 6, 344.
- Austin, A. T., & Ballaré, C. L. (2010). Dual role of lignin in plant litter decomposition in terrestrial ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(10), 4618–4622.
- Barbehenn, R. V., & Constabel, C. P. (2011). Tannins in plant–herbivore interactions. *Phytochemistry*, 72(13), 1551–1565.
- Boeckler, G. A., Gershenzon, J., & Unsicker, S. B. (2011). Phenolic glycosides of the Salicaceae and their role as anti-herbivore defenses. *Phytochemistry*, 72(13), 1497–1509.
- Bothe, H., Turnau, K., & Regvar, M. (2010). The potential role of arbuscular mycorrhizal fungi in protecting endangered plants and habitats. *Mycorrhiza*, 20(7), 445–457.
- Box, J. D. (1983). Investigation of the Folin-Ciocalteu phenol reagent for the determination of polyphenolic substances in natural waters. *Water Research*, 17(5), 511–525.
- Cartelat, A., Cerovic, Z. G., Goulas, Y., Meyer, S., Lelarge, C., Prioul, J.-L., Barbottin, A., Jeuffroy, M.-H., Gate, P., Agati, G., & others. (2005). Optically assessed contents of leaf polyphenolics and chlorophyll as indicators of nitrogen deficiency in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Field Crops Research*, 91(1), 35–49.

- Cicatelli, A., Lingua, G., Todeschini, V., Biondi, S., Torrigiani, P., & Castiglione, S. (2010). Arbuscular mycorrhizal fungi restore normal growth in a white poplar clone grown on heavy metal-contaminated soil, and this is associated with upregulation of foliar metallothionein and polyamine biosynthetic gene expression. *Annals of Botany*, *106*(5), 791–802.
- Cicatelli, A., Todeschini, V., Lingua, G., Biondi, S., Torrigiani, P., & Castiglione, S. (2014). Epigenetic control of heavy metal stress response in mycorrhizal versus non-mycorrhizal poplar plants. *Environmental Science and Pollution Research*, *21*(3), 1723–1737.
- Donaldson, J. R., Stevens, M. T., Barnhill, H. R., & Lindroth, R. L. (2006). Age-related shifts in leaf chemistry of clonal aspen (*Populus tremuloides*). *Journal of Chemical Ecology*, *32*(7), 1415–1429.
- Durand, T. C., Hausman, J. F., Carpin, S., Albéric, P., Baillif, P., Label, P., & Morabito, D. (2010). Zinc and cadmium effects on growth and ion distribution in *Populus tremula* × *Populus alba*. *Biologia Plantarum*, *54*(1), 191–194.
- Elobeid, M., Göbel, C., Feussner, I., & Polle, A. (2012). Cadmium interferes with auxin physiology and lignification in poplar. *Journal of Experimental Botany*, *63*(3), 1413–1421.
- Frost, P. C., Evans-White, M. A., Finkel, Z. V., Jensen, T. C., & Matzek, V. (2005). Are you what you eat? Physiological constraints on organismal stoichiometry in an elementally imbalanced world. *Oikos*, *109*(1), 18–28.
- Gallego, S. M., Pena, L. B., Barcia, R. A., Azpilicueta, C. E., Iannone, M. F., Rosales, E. P., Zawoznik, M. S., Groppa, M. D., & Benavides, M. P. (2012). Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. *Environmental and Experimental Botany*, *83*, 33–46.

- Gessner, M. O., Swan, C. M., Dang, C. K., McKie, B. G., Bardgett, R. D., Wall, D. H., & Hättenschwiler, S. (2010). Diversity meets decomposition. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(6), 372–380.
- Goulas, Y., Cerovic, Z. G., Cartelat, A., & Moya, I. (2004). Dualex: a new instrument for field measurements of epidermal ultraviolet absorbance by chlorophyll fluorescence. *Applied Optics*, 43(23), 4488–4496.
- Graça, M. A. S., Bärlocher, F., & Gessner, M. O. (2005). *Methods to study litter decomposition: a practical guide*. Springer.
- Güsewell, S., & Verhoeven, J. T. (2006). Litter N: P ratios indicate whether N or P limits the decomposability of graminoid leaf litter. *Plant and Soil*, 287(1-2), 131–143.
- Hagerman, A. E. (2002). *Tannin Handbook*. Miami University. Oxford OH.
- Hagerman, A. E., Riedl, K. M., Jones, G. A., Sovik, K. N., Ritchard, N. T., Hartzfeld, P. W., & Riechel, T. L. (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1887–1892.
- Hall, J. L. (2002). Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 53(366), 1–11.
- Harrison, A. F. (1971). The inhibitory effect of oak leaf litter tannins on the growth of fungi, in relation to litter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, 3(3), 167–172.
- Hassinen, V. H., Tervahauta, A. I., Schat, H., & Kärenlampi, S. O. (2011). Plant metallothioneins—metal chelators with ROS scavenging activity? *Plant Biology*, 13(2), 225–232.
- Hättenschwiler, S., & Jørgensen, H. B. (2010). Carbon quality rather than stoichiometry controls litter decomposition in a tropical rain forest. *Journal of Ecology*, 98(4), 754–763.

- Hättenschwiler, S., & Vitousek, P. M. (2000). The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *Trends in Ecology & Evolution*, 15(6), 238–243.
- Hobbie, S. E. (2000). Interactions between litter lignin and nitrogen litter lignin and soil nitrogen availability during leaf litter decomposition in a Hawaiian montane forest. *Ecosystems*, 3(5), 484–494.
- Hopkin, S. P., Watson, K., Martin, M. H., & Mould, M. L. (1985). The assimilation of heavy metals by *Lithobius variegatus* and *Glomeris marginata* (Chilopoda; Diplopoda). *Bijdragen Tot De Dierkunde*, 55(1), 88–94.
- Kieffer, P., Dommes, J., Hoffmann, L., Hausman, J.-F., & Renaut, J. (2008a). Quantitative changes in protein expression of cadmium-exposed poplar plants. *Proteomics*, 8(12), 2514–2530.
- Kieffer, P., Planchon, S., Oufir, M., Ziebel, J., Dommes, J., Hoffmann, L., Hausman, J.-F., & Renaut, J. (2008b). Combining proteomics and metabolite analyses to unravel cadmium stress-response in poplar leaves. *Journal of Proteome Research*, 8(1), 400–417.
- Köhler, H.-R., Körtje, K.-H., & Alberti, G. (1995). Content, absorption quantities and intracellular storage sites of heavy metals in Diplopoda (Arthropoda). *BioMetals*, 8(1), 37–46.
- Lambers, H., Chapin, F. S., & Pons, T. L. (2008). *Plant physiological ecology* (second). Springer Science+Business Media, LLC.
- Lecerf, A., & Chauvet, E. (2008). Intraspecific variability in leaf traits strongly affects alder leaf decomposition in a stream. *Basic and Applied Ecology*, 9(5), 598–605.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymology*, pp. 350–382.

- Lingua, G., Franchin, C., Todeschini, V., Castiglione, S., Biondi, S., Burlando, B., Parravicini, V., Torrigiani, P., & Berta, G. (2008). Arbuscular mycorrhizal fungi differentially affect the response to high zinc concentrations of two registered poplar clones. *Environmental Pollution*, *153*(1), 137–147.
- Loranger, G., Ponge, J.-F., Imbert, D., & Lavelle, P. (2002). Leaf decomposition in two semi-evergreen tropical forests: influence of litter quality. *Biology and Fertility of Soils*, *35*(4), 247–252.
- Ma, W. (1988). Toxicity of copper to lumbricid earthworms in sandy agricultural soils amended with Cu-enriched organic waste materials. *Ecological Bulletins*, 53–56.
- McDonald, M., Mila, I., & Scalbert, A. (1996). Precipitation of metal ions by plant polyphenols: optimal conditions and origin of precipitation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *44*(2), 599–606.
- McEnroe, N. A., & Helmisaari, H.-S. (2001). Decomposition of coniferous forest litter along a heavy metal pollution gradient, south-west Finland. *Environmental Pollution*, *113*(1), 11–18.
- Meentemeyer, V. (1978). Macroclimate and lignin control of litter decomposition rates. *Ecology*, *59*(3), 465–472.
- Meharg, A. A., & Hartley-Whitaker, J. (2002). Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist*, *154*(1), 29–43.
- Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., & Sreekanth, T. V. M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, *8*(3), 199–216.
- Niehaus, J. U., & Gross, G. G. (1997). A gallotannin degrading esterase from leaves of pedunculate oak. *The International Journal of Plant Biochemistry and Molecular Biology*, *45*(8), 1555–1560.

- O'Connell, D. W., Birkinshaw, C., & O'Dwyer, T. F. (2008). Heavy metal adsorbents prepared from the modification of cellulose: A review. *Bioresource Technology*, 99(15), 6709–6724.
- Pal, R., & Rai, J. P. N. (2010). Phytochelatins: peptides involved in heavy metal detoxification. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 160(3), 945–963.
- Pallara, G., Todeschini, V., Lingua, G., Camussi, A., & Racchi, M. L. (2013). Transcript analysis of stress defence genes in a white poplar clone inoculated with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and grown on a polluted soil. *Plant Physiology and Biochemistry*, 63, 131–139.
- Peters, D. J., & Constabel, C. P. (2002). Molecular analysis of herbivore-induced condensed tannin synthesis: cloning and expression of dihydroflavonol reductase from trembling aspen (*Populus tremuloides*). *The Plant Journal*, 32(5), 701–712.
- Pottier, M., de la Torre, V. S. G., Victor, C., David, L. C., Chalot, M., & Thomine, S. (2015). Genotypic variations in the dynamics of metal concentrations in poplar leaves: A field study with a perspective on phytoremediation. *Environmental Pollution*, 199, 73–82.
- Qualls, R. G., & Richardson, C. J. (2000). Phosphorus enrichment affects litter decomposition, immobilization, and soil microbial phosphorus in wetland mesocosms. *Soil Science Society of America Journal*, 64(2), 799–808.
- Rascio, N., & Navari-Izzo, F. (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*, 180(2), 169–181.
- Raubenheimer, D., Simpson, S. J., & Mayntz, D. (2009). Nutrition, ecology and nutritional ecology: toward an integrated framework. *Functional Ecology*, 23(1), 4–16.
- Schmidt, M. A., Kreinberg, A. J., Gonzalez, J. M., Halvorson, J. J., French, E., Bollmann, A., & Hagerman, A. E. (2013). Soil microbial communities respond differently to three chemically defined polyphenols. *Plant Physiology and Biochemistry*, 72, 190–197.

- Schweitzer, J. A., Bailey, J. K., Rehill, B. J., Martinsen, G. D., Hart, S. C., Lindroth, R. L., Keim, P., & Whitham, T. G. (2004). Genetically based trait in a dominant tree affects ecosystem processes. *Ecology Letters*, 7(2), 127–134.
- Smith, S. E., Christophersen, H. M., Pope, S., & Smith, F. A. (2010). Arsenic uptake and toxicity in plants: integrating mycorrhizal influences. *Plant and Soil*, 327(1-2), 1–21.
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2010). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic press.
- Spurgeon, D. J., & Hopkin, S. P. (1999). Tolerance to zinc in populations of the earthworm *Lumbricus rubellus* from uncontaminated and metal-contaminated ecosystems. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 37(3), 332–337.
- Spurgeon, D. J., Svendsen, C., Rimmer, V. R., Hopkin, S. P., & Weeks, J. M. (2000). Relative sensitivity of life-cycle and biomarker responses in four earthworm species exposed to zinc. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(7), 1800–1808.
- Sterner, R. W., & Schulz, K. L. (1998). Zooplankton nutrition: recent progress and a reality check. *Aquatic Ecology*, 32(4), 261–279.
- Stevens, M. T., & Lindroth, R. L. (2005). Induced resistance in the indeterminate growth of aspen (*Populus tremuloides*). *Oecologia*, 145(2), 297–305.
- Todeschini, V., Franchin, C., Castiglione, S., Burlando, B., Biondi, S., Torrigiani, P., Berta, G., & Lingua, G. (2007). Responses to copper of two registered poplar clones inoculated or not with arbuscular mycorrhizal fungi. *Caryologia*, 60(1-2), 146–155.
- trouvelot, A., Kough, J. L., & Gianinazzi-Pearson, V. (1986). Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherches et méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In *Mycorrhizes : physiologie et génétique* (pp. 217–220). Dijon, INRA.

- Visioli, G., Menta, C., Gardi, C., & Conti, F. D. (2013). Metal toxicity and biodiversity in serpentine soils: Application of bioassay tests and microarthropod index. *Chemosphere*, *90*(3), 1267–1273.
- Vitousek, P. M., Turner, D. R., Parton, W. J., & Sanford, R. L. (1994). Litter decomposition on the Mauna Loa environmental matrix, Hawai'i: patterns, mechanisms, and models. *Ecology*, 418–429.
- Wagner, N. D., Hillebrand, H., Wacker, A., & Frost, P. C. (2013). Nutritional indicators and their uses in ecology. *Ecology Letters*, *16*(4), 535–544.
- Zhang, F., Wan, X., Zheng, Y., Sun, L., Chen, Q., Guo, Y., Zhu, X., & Liu, M. (2014). Physiological and related anthocyanin biosynthesis genes responses induced by cadmium stress in a new colored-leaf plant “Quanhong Poplar.” *Agroforestry Systems*, *88*(2), 343–355.

Conclusion et perspectives

Contexte

Cette thèse contribue à une meilleure compréhension du fonctionnement des sols pollués caractérisés par de fortes concentrations en ETM, et dans une moindre mesure en polluants organiques, ainsi que par l'altération de nombreuses autres caractéristiques édaphiques. L'étude de la décomposition de la litière de feuilles apporte des informations sur la réalisation des cycles du carbone et des nutriments (Moore et al., 2004) et sur les modalités et acteurs de ce processus écologique. Le taux de décomposition est contrôlé à la fois par les végétaux (production et qualité de la litière) et les consommateurs de litières (détritivores, bactéries et champignons) (Aerts, 1997). Ainsi, j'ai étudié l'effet de la pollution des sols sur la qualité des litières, les assemblages de consommateurs et leur activité de décomposition. La Figure 6.1. récapitule les principaux résultats de ma thèse.

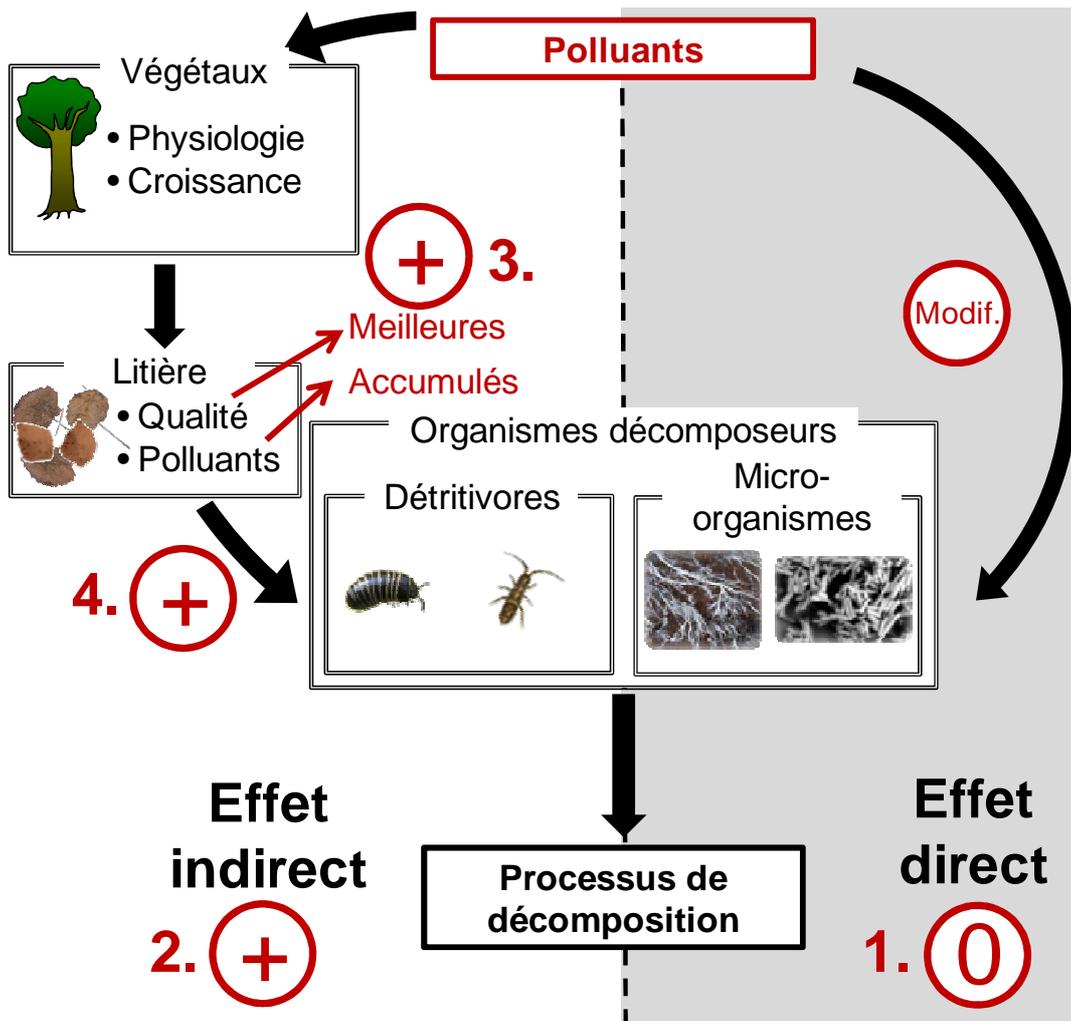


Figure 6.1 Schéma représentant les principaux résultats de ce doctorat : deux voies d'action de la pollution du sol sur le processus de décomposition de la litière. 1. En gris, l'effet direct. La structure des communautés des acteurs de la décomposition, dont dépendent les processus de décomposition, est affectée par la pollution des sols, notamment celle des bactéries. 2. En blanc, la voie indirecte influençant positivement les acteurs de la décomposition. 3. Du fait des effets délétères de la pollution sur les végétaux et des mécanismes de résistance, certains paramètres associés à la qualité de la litière produite sont modifiés entraînant une amélioration de cette dernière. 4. La meilleure qualité induit une augmentation de la consommation de la litière malgré la présence des polluants dans les litières.

Globalement, la décomposition de la litière n'est pas affectée par la pollution des sols.

Dans ce schéma, la voie directe est constituée de l'ensemble des effets que provoquent les polluants sur les acteurs de la décomposition (Figure 6.1, 1.), en particulier leurs traits d'histoire de vie (Ma, 1988; Spurgeon & Hopkin, 1999 ; Spurgeon et al., 2000) et l'assemblage des communautés (Spurgeon & Hopkin, 1996 ; Giller et al., 2009). La deuxième voie d'action de la pollution sur la décomposition implique une réponse physiologique des plantes conduisant à la modification des paramètres physico-chimiques de la litière et donc de sa dégradabilité. En effet, la qualité de la litière pourrait être négativement affectée par la pollution du sol, à la fois par une augmentation systématique de sa teneur en polluants, mais également par des modifications de différents traits foliaires suite à des modifications de la physiologie des plantes (par exemple : diminution de l'acquisition des nutriments, chlorose des feuilles,...) (Lambers et al., 2008; Nagajyoti et al., 2010) et la mise en place de mécanismes de résistance (Lambers et al., 2008) engendrant une augmentation de la production de composés phénoliques (McDonald et al., 1996 ; Hagerman et al., 1998 ; Barbehenn & Constabel, 2011) (Figure 6.1, 2). Ici nous avons considéré la qualité comme étant l'ensemble des paramètres physico-chimiques de la litière pouvant influencer sa décomposabilité, c'est-à-dire sa vitesse de décomposition potentielle (Cadisch & Giller, 1997; Coûteaux et al., 1995). Ainsi une litière de bonne qualité désignerait une litière dont le taux de décomposition est important.

Pas d'effet direct : Maintien du taux de décomposition malgré des modifications de la structure des communautés des acteurs

Une première expérimentation (Chapitre I) nous a permis de mettre en évidence que malgré une forte pollution des sols, le taux de décomposition des litières sur le sol d'un écosystème forestier développé sur un bassin de décantation de boues de haut fourneau pouvait être maintenu à un niveau similaire à celui de sols non pollués à proximité. Nous avons ensuite confirmé et généralisé ce résultat grâce à l'étude de 8 couples de sites pollués/non pollués en France qui ne montraient pas non plus de différence notable entre les taux de décomposition mesurés (Chapitre II).

Dans nos deux études, des différences dans la structure des communautés de consommateurs de litière ont été détectées entre sites pollués et non pollués. En effet, nous avons observé des espèces différentes et une augmentation de l'abondance des détritivores sur le site pollué étudié dans le chapitre I, ainsi qu'une colonisation microbienne différente des litières, celles incubées sur les sites pollués du chapitre II présentant une plus grande abondance relative en bactéries comparée aux champignons que sur les sites non-pollués. L'absence de différences de taux de décomposition entre les sites pollués et non-pollués semble indiquer que des communautés différentes peuvent être équivalentes en terme d'efficacité de dégradation de la litière. Si la redondance fonctionnelle parmi les consommateurs de litière est sans doute un des principaux éléments d'explication (Walker, 1992 ; Naeem et al., in Loreau et al., 2002), des études spécifiques sont nécessaires pour comprendre comment la pollution du sol module les relations diversité-fonction de décomposition des litières. La comparaison des traits fonctionnels liés à la décomposition (consommation, assimilation,...) des détritivores présent sur sites pollués et non-pollués constituerait une première étape dans ce sens.

Effet indirect : La pollution des sols induit globalement une « amélioration » de la qualité des litières de feuilles

L'expérimentation présentée dans le chapitre I a également permis de mettre en évidence, toujours pour le cas précis de l'écosystème développé sur un bassin de boues de haut fourneau, que la litière produite sur un site pollué était systématiquement décomposée plus rapidement que la litière issue des sites non pollués. Ce résultat est d'autant plus contre-intuitif que les litières du site pollué contenaient du zinc et du cadmium, deux ETM réputés pour leur toxicité pour la faune du sol (Hopkin et al., 1985; Spurgeon & Hopkin, 1996; da Silva Souza et al., 2014) L'étude des paramètres physico-chimiques des litières a permis de mettre en évidence une teneur en lignine significativement plus faible dans la litière provenant du site pollué, comparativement à celles de 3 autres sites non pollués à proximité. Nous avons donc conclu de cette première étude que (Figure 6.1, 3) 1) la contamination du sol pouvait entraîner une amélioration de la qualité de la litière du fait d'une diminution de la teneur en lignine malgré l'accumulation de certains contaminants dans les litières et 2) que cette amélioration de la qualité des litières se traduisait par des taux de décomposition de ces litières plus élevés (Figure 6.1, 2). L'effet indirect que nous supposions *a priori* être négatif s'est donc avéré positif sur la décomposition des litières.

Il est important de noter que l'amélioration de la qualité des litières sur des sites pollués est une tendance généralisable à l'ensemble des espèces d'arbre étudiées dans cette thèse (Tableau 6.1). A l'image du peuplier tremble étudié dans le Chapitre I, l'aulne, le bouleau et le chêne n'ont pas montré de capacité à réassimiler les polluants métalliques accumulés dans leurs feuilles lors de la sénescence, ce qui conduit à un maintien des ETMs dans les litières (Chapitre III). Cette stratégie de gestion des ETMs par la plante implique une dispersion des polluants dans l'environnement lors de la chute des feuilles, entraînant potentiellement un transfert de ces polluants vers d'autres écosystèmes (terrestres ou aquatiques). Du point de

vue de la plante, cette stratégie de gestion des ETM permettrait à court terme de diminuer la teneur totale en ETM au risque de réabsorber les ETM présent dans la litière une fois ces dernières décomposées.

L'étude menée en conditions contrôlées (Chapitre IV) révèle que l'exposition de jeunes plants de *Populus trichocarpa* à des ETMs a un effet sur la qualité des litières assez similaires que ceux constatés sur des arbres matures issus d'un sol multi-pollués. Sur l'ensemble des résultats, il ressort que le rapport C:N des litières a toujours été inférieur pour les plantes exposées à de fortes teneurs en ETMs par rapport à des plantes associés à des sols non-pollués. Pour les autres traits foliaires (N, lignine, composé phénolique), des différences liées à la pollution n'étaient pas détectées systématiquement sur l'ensemble des cas étudiés, mais lorsqu'elles l'étaient, ces différences allaient systématiquement dans le sens d'une amélioration de la qualité. L'étude expérimentale suggère que le type de polluant (espèce d'ETM) et l'espèce végétale détermine quels traits foliaires sont affecté (Tableau 6.1.). Aucune tendance contraire n'est apparue (Tableau 6.1.), renforçant l'idée que la pollution des sols ne dégrade pas la qualité des litières.

Tableau 6.1 Synthèse des effets de la pollution du sol sur les traits de qualité de la litière des 5 espèces végétales étudiées durant la thèse. Les symboles indiquent si la pollution a induit une augmentation (+) une diminution (-) ou aucun effet (0) sur les traits vis-à-vis desquels la décomposabilité est positivement corrélée (N,P) ou négativement corrélé (lignine, composés phénoliques) et également sur la qualité stœchiométrique (ratios C:N et N:P). Les symboles entre parenthèses indiquent une tendance non statistiquement significative. Les traits mesurés n'ayant pas subis d'effet de la pollution n'apparaissent pas dans ce tableau.

Effet de la pollution sur la qualité de la litière							
	Chapitre I		Chapitre III			Chapitre IV	
	<i>Populus tremula</i>	<i>Aulus glutinosa</i>	<i>Betula alba</i>	<i>Quercus petraea</i>	<i>Populus trichocarpa</i>		
	Sol Multipollué	Sol Multipollué	Sol Multipollué	Sol Multipollué	Mileu contrôlé Cd	Mileu contrôlé As	
N	0	+	0	0	+	+	
C:N	-	-	-	-	-	-	
N:P	0	+	+	+	+	0	
Lignine	-	0	0	0	0	(-)	
Composés phénoliques	0	-	-	-	0	0	

Les mécanismes en jeu dans l'amélioration de la qualité de la litière sur les sols pollués restent à déterminer. Nous pouvons supposer que cela résulte en partie de la mise en place des mécanismes de résistance des végétaux, qui peuvent, par exemple, se traduire par une modification des teneurs et de la diversité des composés phénoliques. Ces derniers sont à la fois impliqués dans les systèmes de résistance des plantes face aux toxiques (capacités antioxydants, séquestration des métaux) et dans la lutte contre l'herbivorie qui est également susceptible d'affecter les détritivores. Une piste intéressante de recherche consisterait à évaluer la réponse à la pollution du sol des différentes familles de composés phénoliques présentes dans les feuilles et ses conséquences sur les consommateurs.

Des travaux préliminaires menés en marge de ma thèse, par des étudiants de master apportent des résultats contradictoires quant à l'utilisation des litières produites sur des sites pollués par les détritivores. Dans une première expérience, *Glomeris marginata* a consommé une litière d'un site pollué jusqu'à 10 fois plus rapidement qu'une litière issue d'un site non pollué (voir annexe). Par contre, dans une deuxième expérience impliquant un plus grand nombre d'échantillons, les litières « polluées » n'étaient pas toujours les plus consommées (Figure 6.1, 4). Ces deux expérimentations permettent de mettre en perspective la relation entre paramètres de qualité et consommation de la litière. En effet ces expérimentations indiquent qu'une amélioration de la qualité, induite par la pollution, ne semble pas conduire nécessairement à une consommation plus grande de cette litière. Lorsqu'on s'intéresse spécifiquement à l'effet des ETM de la litière sur la consommation, ces derniers induisent des effets délétères sur les consommateurs pouvant engendrer une diminution de la consommation (Ma, 1988; Spurgeon & Hopkin, 1999 ; Spurgeon et al., 2000). Toutefois, il a pu être observé une consommation plus grande des litières polluées pour le vers de terre *Lumbricus rubellus* (Hobbelen et al., 2006), les isopodes (Van Straalen & Verweij, 1991) ou encore les diplopodes (da Silva Souza et al., 2014). De ce fait l'effet de la présence d'ETM dans la litière sur la consommation semble selon le contexte avoir un effet positif ou négatif sur la consommation dépendant, nous supposons de la nature et des concentrations en ces ETM dans les litières. Ainsi la présence des ETM dans la litière, en nature et concentrations variables, pourrait expliquer le fait que la consommation des litières ne soit pas nécessairement plus grande lorsque ces dernières sont produites sur site pollué.

Ainsi dans certains cas les ETM peuvent induire une consommation plus grande des litières c'est-à-dire améliorer la qualité de la litière telle que définie par Cadisch & Giller (1997) et Coûteaux et al. (1995). Cela constitue une première critique de la notion de bonne qualité car cette définition donne une connotation positive à la présence d'ETM dans les litières alors que

leur consommation induit des effets délétères sur les consommateurs. Par ailleurs une autres critiques pouvant être fait à cette notion de qualité est l'évaluation que nous faisons de cette dernière. En effet la qualité est évaluée à l'aide de paramètres tels que les teneurs en azote ou phosphore (Aerts, 1997; Qualls & Richardson, 2000; Agren et al., 2001; Güsewell & Verhoeven, 2006). Or il a été observée une augmentation de la consommation de litière pauvre en azote par les détritivores, augmentation permettant à ces dernier d'assimiler l'azote qu'ils leur était nécessaire (Mattson Jr, 1980). Ainsi une litière de mauvaise qualité peut être rapidement consommée. De ce fait l'évaluation de l'effet de la pollution sur la qualité de la litière semble indissociable de la mesure de ça consommation par les détritivores.

De nouvelles études permettraient 1) de valider ces résultats *in situ* en présence de l'ensemble des communautés de détritivores et pas uniquement avec un détritivore modèle, 2) de comprendre le déterminisme du taux de consommation de ces détritivores et 3) d'évaluer les impacts de la consommation de litières « polluées » sur le métabolisme et les traits d'histoire de vie des détritivores.

Implications des résultats pour la gestion des sites pollués

Vu de manière superficielle, les résultats de cette thèse peuvent apparaître comme insatisfaisants, notamment en raison de l'absence d'effet négatif de la pollution des sols sur le taux de décomposition des litières. Ceci est d'autant plus surprenant que de nombreuses études menées en milieux aquatiques ont montré un ralentissement systématique du processus de décomposition des litières terrestres en relation avec des pollutions par les ETMs (Niyogi et al., 2001). Dans mes études, la plupart des sites étudiés présentaient des niveaux de pollution très élevés laissant penser que les phénomènes de toxicité chronique auraient considérablement réduit l'activité biologique responsable de la décomposition des litières. Les litières se décomposant à la surface du sol, il est envisageable que les détritivores et les

décomposeurs microbiens vivants au sein des litières sont exposés à un stress toxique moindre que la faune et la flore endogée. Il faut rappeler ici que la détermination des polluants dans les sols ne se base que sur l'horizon A et n'inclut pas les litières. Même si la litière apporte au sol des quantités non-négligeables d'ETMs, ceux-ci peuvent prendre des formes moins toxiques que dans les sols. Les ETMs apportés aux sols par les litières sont aussi susceptibles de migrer rapidement en profondeur sous l'action du lessivage et de la fragmentation par les organismes. Au vu de ces hypothèses il apparaît pertinent de chercher à déterminer le niveau réel d'exposition des acteurs de la décomposition de litières à la surface du sol.

Lorsque l'excès d'ETMs dans les sols ne modifie pas la structure et la composition taxonomique des communautés végétales, il faut s'attendre à une minéralisation et une fragmentation accélérée des litières en lien avec l'amélioration globale de leur qualité. Cet effet indirect de la pollution peut diminuer la fonction de séquestration du carbone et d'immobilisation des nutriments par les couches superficiels du sol. Au final, le stock de litières couvrant les sols est susceptible d'être plus faible en milieu pollué que non-pollué. A cet égard, la pollution des sols peut aussi signifier la perte d'habitat pour la faune et la flore (Hansen, 2000) et une moindre protection des sols face à l'évaporation de l'eau (Villegas et al., 2010). Les changements globaux sont eux aussi susceptibles d'affecter la séquestration du carbone. Ainsi du fait de l'élévation de la température la décomposition se voit accélérée (Cox et al., 2000 ; Davidson & Janssens, 2006) ce qui est suspecter de mener à un rétrocontrôle positif sur le réchauffement du fait de l'augmentation importante de dioxyde de carbone qui s'en suit (Cox et al., 2000). A cela s'ajoute également l'effet des dépôts azotés. Ces derniers favorisant la décomposition des composés facilement dégradables mais ralentissant la décomposition des composés récalcitrants ils sont également suspecter d'affecter la séquestration du carbone (Waldrop et al., 2004). Ainsi les ETM et plus précisément ceux présents dans les litières constituent une nouvelle pression anthropique sur les écosystèmes

terrestres et plus particulièrement les services qu'ils rendent, en particulier, le stockage du carbone.

Les mesures de taux de décomposition basées sur une litière standard (cf. Chapitre II), suggère que le potentiel des sols à recycler la matière végétale morte est bien plus stable face à des perturbations chimiques et physiques que d'autres facettes de l'écosystème. Aussi, il a souvent été montré que la biodiversité répond fortement à la pollution des sols, posant les bases pour l'utilisation des communautés végétales (Fai et al., 2007; Remon et al., 2013), animales (Cortet et al., 1999; De Vaufléury et al., 2013) et microbiennes (Dequiedt et al., 2011; Ranjard et al., 2009) comme bio-indicateurs de l'état écologique des friches industriels. La décomposition des litières a, elle aussi, été proposée comme un indicateur de l'état de santé des écosystèmes (Gessner & Chauvet, 2002), ayant été utilisé avec succès pour évaluer l'impact des activités anthropiques sur les milieux aquatiques (e.g., Woodward et al., 2012). Mes travaux de thèse sont une première approche à l'utilisation de la décomposition des litières comme indicateur fonctionnel d'écosystèmes terrestres fortement anthropisés. Au vu des résultats, il semblerait qu'une meilleure caractérisation de l'impact de la pollution sur le processus passe par des tests de dégradabilité de litières provenant de sites pollués et non pollué et mises à décomposer dans un environnement commun.

Références bibliographiques

- Aerts, R. (1997). Climate, leaf litter chemistry and leaf litter decomposition in terrestrial ecosystems: a triangular relationship. *Oikos*, 439–449.
- Agren, G. I., Bosatta, E., & Magill, A. H. (2001). Combining theory and experiment to understand effects of inorganic nitrogen on litter decomposition. *Oecologia*, 128(1), 94–98.
- Al-Chalabi, A. S., & Hawker, D. (2000). Distribution of vehicular lead in roadside soils of major roads of Brisbane, Australia. *Water, Air, and Soil Pollution*, 118(3-4), 299–310.
- Aliferis, K. A., Chamoun, R., & Jabaji, S. (2015). Metabolic responses of willow (*Salix purpurea* L.) leaves to mycorrhization as revealed by mass spectrometry and ¹H NMR spectroscopy metabolite profiling. *Frontiers in Plant Science*, 6, 344.
- Anderson, M. J. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26(1), 32–46.
- Andreoni, V., Cavalca, L., Rao, M. A., Nocerino, G., Bernasconi, S., Dell’Amico, E., Colombo, M., & Gianfreda, L. (2004). Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils. *Chemosphere*, 57(5), 401–412.
- Aran, D., Maul, A., & Masfaraud, J.-F. (2008). A spectrophotometric measurement of soil cation exchange capacity based on cobaltihexamine chloride absorbance. *Comptes Rendus Geoscience*, 340(12), 865–871.
- Assessment, M. E., & others. (2005). *Ecosystems and human well-being* (Vol. 5). Island Press Washington, DC.
- Association Française de Normalisation. (1990). Eaux-Méthodes d’Essais. *Ed. AFNOR*.
- Atkin, O. K., Loveys, B. R., Atkinson, L. J., & Pons, T. L. (2006). Phenotypic plasticity and growth temperature: understanding interspecific variability. *Journal of Experimental Botany*, 57(2), 267–281.

- Austin, A. T., & Ballaré, C. L. (2010). Dual role of lignin in plant litter decomposition in terrestrial ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(10), 4618–4622.
- Austin, A. T., & Vitousek, P. M. (2000). Precipitation, decomposition and litter decomposability of *Metrosideros polymorpha* in native forests on Hawai'i. *Journal of Ecology*, 88(1), 129–138.
- Austin, A. T., & Vivanco, L. (2006). Plant litter decomposition in a semi-arid ecosystem controlled by photodegradation. *Nature*, 442(7102), 555–558.
- Ayres, E., Steltzer, H., Berg, S., & Wall, D. H. (2009). Soil biota accelerate decomposition in high-elevation forests by specializing in the breakdown of litter produced by the plant species above them. *Journal of Ecology*, 97(5), 901–912.
- Baath, E. (1989). Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations (a review). *Water, Air, and Soil Pollution*, 47(3-4), 335–379.
- Bachmann, J., Guggenberger, G., Baumgartl, T., Ellerbrock, R. H., Urbanek, E., Goebel, M.-O., Kaiser, K., Horn, R., & Fischer, W. R. (2008). Physical carbon-sequestration mechanisms under special consideration of soil wettability. *J. Plant Nutr. Soil Sci*, 171(1), 14–26.
- Baize, D. (1997). *Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France)* (Quae).
- Bani, A., Pavlova, D., Echevarria, G., Mullaj, A., Reeves, R. D., Morel, J. L., Sulcice, S., & others. (2010). Nickel hyperaccumulation by the species of *Alyssum* and *Thlaspi* (Brassicaceae) from the ultramafic soils of the Balkans. *Botanica Serbica*, 34(1), 3–14.
- Barbehenn, R. V., & Constabel, C. P. (2011). Tannins in plant–herbivore interactions. *Phytochemistry*, 72(13), 1551–1565.

- Bargagli, R. (1998a). Phytoremediation of Metal-Contaminated Sites. In *Trace Elements in Terrestrial Plants* (pp. 293–317). Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
- Bargagli, R. (1998b). *Trace elements in terrestrial plants: an ecophysiological approach to biomonitoring and biorecovery*. Berlin; New York: Springer.
- Beare, M. H., Parmelee, R. W., Hendrix, P. F., Cheng, W., Coleman, D. C., & Crossley Jr, D. A. (1992). Microbial and faunal interactions and effects on litter nitrogen and decomposition in agroecosystems. *Ecological Monographs*, 569–591.
- Behmer, S. T., Lloyd, C. M., Raubenheimer, D., Stewart-Clark, J., Knight, J., Leighton, R. S., Harper, F. A., & Smith, J. A. C. (2005). Metal hyperaccumulation in plants: mechanisms of defence against insect herbivores. *Functional Ecology*, 19(1), 55–66.
- Bengtsson, J., Nilsson, S. G., Franc, A., & Menozzi, P. (2000). Biodiversity, disturbances, ecosystem function and management of European forests. *Forest Ecology and Management*, 132(1), 39–50.
- Berg, B., Berg, M. P., Bottner, P., Box, E., Breymeyer, A., de Anta, R. C., Couteaux, M., Escudero, A., Gallardo, A., Kratz, W., & others. (1993). Litter mass loss rates in pine forests of Europe and Eastern United States: some relationships with climate and litter quality. *Biogeochemistry*, 20(3), 127–159.
- Berg, B., & McClaugherty, C. (2003). Plant litter. *Decomposition, Humus Formation, Carbon Sequestration*. Berlin, DE. © Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Berg, B., & Staaf, H. (1987). Release of nutrients from decomposing white birch leaves and Scots pine needle litter. *Pedobiologia*, 30(1), 55–63.
- Best, G. R., Nabholz, J. V., Ojasti, J., & Crossley Jr, D. A. (1978). Response of microarthropod populations to naphthalene in three contrasting habitats. *Pedobiologia*.
- Biache, C., Mansuy-Huault, L., & Faure, P. (2014). Impact of oxidation and biodegradation on the most commonly used polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) diagnostic ratios:

- Implications for the source identifications. *Journal of Hazardous Materials*, 267, 31–39.
- Bingham, F. T., Page, A. L., Mahler, R. J., & Ganje, T. J. (1975). Growth and Cadmium Accumulation of Plants Grown on a Soil Treated with a Cadmium-Enriched Sewage Sludge. *Journal of Environmental Quality*, 4(2), 207–211.
- Blaudez, D., Botton, B., & Chalot, M. (2000). Effects of heavy metals on nitrogen uptake by *Paxillus involutus* and mycorrhizal birch seedlings. *FEMS Microbiology Ecology*, 33(1), 61–67.
- Boeckler, G. A., Gershenzon, J., & Unsicker, S. B. (2011). Phenolic glycosides of the Salicaceae and their role as anti-herbivore defenses. *Phytochemistry*, 72(13), 1497–1509.
- Bothe, H., Turnau, K., & Regvar, M. (2010). The potential role of arbuscular mycorrhizal fungi in protecting endangered plants and habitats. *Mycorrhiza*, 20(7), 445–457.
- Bouché, M. B. (1977). Strategies lombriciennes. *Ecological Bulletins*, 122–132.
- Box, J. D. (1983). Investigation of the Folin-Ciocalteu phenol reagent for the determination of polyphenolic substances in natural waters. *Water Research*, 17(5), 511–525.
- Brandt, K. K., Petersen, A., Holm, P. E., & Nybroe, O. (2006). Decreased abundance and diversity of culturable *Pseudomonas* spp. populations with increasing copper exposure in the sugar beet rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, 56(2), 281–291.
- Brooks, R. R., Lee, J., Reeves, R. D., & Jaffré, T. (1977). Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. *Journal of Geochemical Exploration*, 7, 49–57.
- Brunner, I., Luster, J., Günthardt-Goerg, M. S., & Frey, B. (2008). Heavy metal accumulation and phytostabilisation potential of tree fine roots in a contaminated soil. *Environmental Pollution*, 152(3), 559–568.

- Buening, M. K., Wislocki, P. G., Levin, W., Yagi, H., Thakker, D. R., Akagi, H., Koreeda, M., Jerina, D., & Conney, A. H. (1978). Tumorigenicity of the optical enantiomers of the diastereomeric benzo [a] pyrene 7, 8-diol-9, 10-epoxides in newborn mice: exceptional activity of (+)-7beta, 8alpha-dihydroxy-9alpha, 10alpha-epoxy-7, 8, 9, 10-tetrahydrobenzo [a] pyrene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 75(11), 5358–5361.
- Caccianiga, M., Luzzaro, A., Pierce, S., Ceriani, R. M., & Cerabolini, B. (2006). The functional basis of a primary succession resolved by CSR classification. *Oikos*, 112(1), 10–20.
- Cadisch, G., & Giller, K. E. (1997). *Driven by nature: plant litter quality and decomposition*. CAB international.
- Cartelat, A., Cerovic, Z. G., Goulas, Y., Meyer, S., Lelarge, C., Prioul, J.-L., Barbottin, A., Jeuffroy, M.-H., Gate, P., Agati, G., & others. (2005). Optically assessed contents of leaf polyphenolics and chlorophyll as indicators of nitrogen deficiency in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Field Crops Research*, 91(1), 35–49.
- Cebrian, J. (1999). Patterns in the fate of production in plant communities. *The American Naturalist*, 154(4), 449–468.
- Cébron, A., Norini, M.-P., Beguiristain, T., & Leyval, C. (2008). Real-time PCR quantification of PAH-ring hydroxylating dioxygenase (PAH-RHD α) genes from Gram positive and Gram negative bacteria in soil and sediment samples. *Journal of Microbiological Methods*, 73(2), 148–159.
- Chapin, F. S., Torn, M. S., & Tateno, M. (1996). Principles of ecosystem sustainability. *American Naturalist*, 1016–1037.
- Chomel, M., Fernandez, C., Bousquet-Mélou, A., Gers, C., Monnier, Y., Santonja, M., Gauquelin, T., Gros, R., Lecareux, C., & Baldy, V. (2014). Secondary metabolites of

- Pinus halepensis* alter decomposer organisms and litter decomposition during afforestation of abandoned agricultural zones. *Journal of Ecology*, 102(2), 411–424.
- Cicatelli, A., Lingua, G., Todeschini, V., Biondi, S., Torrigiani, P., & Castiglione, S. (2010). Arbuscular mycorrhizal fungi restore normal growth in a white poplar clone grown on heavy metal-contaminated soil, and this is associated with upregulation of foliar metallothionein and polyamine biosynthetic gene expression. *Annals of Botany*, 106(5), 791–802.
- Cicatelli, A., Todeschini, V., Lingua, G., Biondi, S., Torrigiani, P., & Castiglione, S. (2014). Epigenetic control of heavy metal stress response in mycorrhizal versus non-mycorrhizal poplar plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(3), 1723–1737.
- Conn, C., & Dighton, J. (2000a). Litter quality influences on decomposition, ectomycorrhizal community structure and mycorrhizal root surface acid phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(4), 489–496.
- Conn, C., & Dighton, J. (2000b). Litter quality influences on decomposition, ectomycorrhizal community structure and mycorrhizal root surface acid phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(4), 489–496.
- Cornelissen, J. H. C., Queded, H. M., van Logtestijn, R. S. P., Pérez-Harguindeguy, N., Gwynn-Jones, D., Díaz, S., Callaghan, T. V., Press, M. C., & Aerts, R. (2006). Foliar pH as a new plant trait: can it explain variation in foliar chemistry and carbon cycling processes among subarctic plant species and types? *Oecologia*, 147(2), 315–326.
- Cornelissen, J. H., Perez-Harguindeguy, N., Díaz, S., Grime, J. P., Marzano, B., Cabido, M., Vendramini, F., & Cerabolini, B. (1999). Leaf structure and defence control litter decomposition rate across species and life forms in regional floras on two continents. *New Phytologist*, 143(1), 191–200.

- Cornelissen, J. H., Sibma, F., Van Logtestijn, R. S., Broekman, R. A., & Thompson, K. (2011). Leaf pH as a plant trait: species-driven rather than soil-driven variation. *Functional Ecology*, 25(3), 449–455.
- Cornwell, W. K., Cornelissen, J. H., Amatangelo, K., Dorrepaal, E., Eviner, V. T., Godoy, O., Hobbie, S. E., Hoorens, B., Kurokawa, H., Pérez-Harguindeguy, N., & others. (2008). Plant species traits are the predominant control on litter decomposition rates within biomes worldwide. *Ecology Letters*, 11(10), 1065–1071.
- Cortet, J., Vauflery, A. G.-D., Poinso-Balaguer, N., Gomot, L., Texier, C., & Cluzeau, D. (1999). The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *European Journal of Soil Biology*, 35(3), 115–134.
- Costanza, R., d' Arge, R., De Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., O'neill, R. V., & Paruelo, J. (1998). The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Ecological Economics*, 1(25), 3–15.
- Coughtrey, P. J., Jones, C. H., Martin, M. H., & Shales, S. W. (1979). Litter accumulation in woodlands contaminated by Pb, Zn, Cd and Cu. *Oecologia*, 39(1), 51–60.
- Coûteaux, M.-M., Bottner, P., & Berg, B. (1995). Litter decomposition, climate and litter quality. *Trends in Ecology & Evolution*, 10(2), 63–66.
- Cox, P. M., Betts, R. A., Jones, C. D., Spall, S. A., & Totterdell, I. J. (2000). Acceleration of global warming due to carbon-cycle feedbacks in a coupled climate model. *Nature*, 408(6809), 184–187.
- Cragg, R. G., & Bardgett, R. D. (2001). How changes in soil faunal diversity and composition within a trophic group influence decomposition processes. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(15), 2073–2081.

- Croteau, M.-N., Luoma, S. N., & Stewart, A. R. (2005). Trophic transfer of metals along freshwater food webs: Evidence of cadmium biomagnification in nature. *Limnology and Oceanography*, 50(5), 1511–1519.
- Cui, Y.-J., Zhu, Y.-G., Zhai, R.-H., Chen, D.-Y., Huang, Y.-Z., Qiu, Y., & Liang, J.-Z. (2004). Transfer of metals from soil to vegetables in an area near a smelter in Nanning, China. *Environment International*, 30(6), 785–791.
- Curry, J. P. (2004). Factors affecting the abundance of earthworms in soils. *Earthworm Ecology*, 91–113.
- Cybulski, W. J., Peterjohn, W. T., & Sullivan, J. H. (2000). The influence of elevated ultraviolet-B radiation (UV-B) on tissue quality and decomposition of loblolly pine (*Pinus taeda* L.) needles. *Environmental and Experimental Botany*, 44(3), 231–241.
- da Silva Souza, T., Christofolletti, C. A., Bozzatto, V., & Fontanetti, C. S. (2014). The use of diplopods in soil ecotoxicology—A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 103, 68–73.
- Dahmani-Muller, H., Van Oort, F., Gelie, B., & Balabane, M. (2000). Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. *Environmental Pollution*, 109(2), 231–238.
- David, J. F. (2014). The role of litter-feeding macroarthropods in decomposition processes: A reappraisal of common views. *Soil Biology and Biochemistry*, 76, 109–118.
- Davidson, E. A., & Janssens, I. A. (2006). Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature*, 440(7081), 165–173.
- De Vaufleury, A., Gimbert, F., & Gomot, L. (2013). *Bioaccumulation, bioamplification des polluants dans la faune terrestre—Un outil pour la biosurveillance des écosystèmes: Un outil pour la biosurveillance des écosystèmes*. EDP sciences.

- Dequiedt, S., Saby, N. P. A., Lelievre, M., Jolivet, C., Thioulouse, J., Toutain, B., Arrouays, D., Bispo, A., Lemanceau, P., & Ranjard, L. (2011). Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management. *Global Ecology and Biogeography*, *20*(4), 641–652.
- Di Baccio, D., Tognetti, R., Minnocci, A., & Sebastiani, L. (2009). Responses of the *Populus×euramericana* clone I-214 to excess zinc: Carbon assimilation, structural modifications, metal distribution and cellular localization. *Environmental and Experimental Botany*, *67*(1), 153–163.
- Diaz, S., Hodgson, J. G., Thompson, K., Cabido, M., Cornelissen, J. H. C., Jalili, A., Montserrat-Marti, G., Grime, J. P., Zarrinkamar, F., & Asri, Y. (2004). The plant traits that drive ecosystems: evidence from three continents. *Journal of Vegetation Science*, *15*(3), 295–304.
- Domínguez, M. T., Madrid, F., Marañón, T., & Murillo, J. M. (2009). Cadmium availability in soil and retention in oak roots: potential for phytostabilization. *Chemosphere*, *76*(4), 480–486.
- Donaldson, J. R., Stevens, M. T., Barnhill, H. R., & Lindroth, R. L. (2006). Age-related shifts in leaf chemistry of clonal aspen (*Populus tremuloides*). *Journal of Chemical Ecology*, *32*(7), 1415–1429.
- Donascimento, C., Amarasiriwardena, D., & Xing, B. (2006). Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. *Environmental Pollution*, *140*(1), 114–123.
- Donker, M. H., Zonneveld, C., & Straalen, N. M. (1993). Early reproduction and increased reproductive allocation in metal-adapted populations of the terrestrial isopod *Porcellio scaber*. *Oecologia*, *96*(3), 316–323.

- Dray, S., Dufour, A.-B., & others. (2007). The ade4 package: implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of Statistical Software*, 22(4), 1–20.
- Driebe, E. M., & Whitham, T. G. (2000). Cottonwood hybridization affects tannin and nitrogen content of leaf litter and alters decomposition. *Oecologia*, 123(1), 99–107.
- Duarte, S., Pascoal, C., Alves, A., Correia, A., & Cassio, F. (2008). Copper and zinc mixtures induce shifts in microbial communities and reduce leaf litter decomposition in streams. *Freshwater Biology*, 53(1), 91–101.
- Dungait, J. A., Hopkins, D. W., Gregory, A. S., & Whitmore, A. P. (2012). Soil organic matter turnover is governed by accessibility not recalcitrance. *Global Change Biology*, 18(6), 1781–1796.
- Durand, T. C., Hausman, J. F., Carpin, S., Albéric, P., Baillif, P., Label, P., & Morabito, D. (2010). Zinc and cadmium effects on growth and ion distribution in *Populus tremula* X *Populus alba*. *Biologia Plantarum*, 54(1), 191–194.
- Eapen, S., & D'Souza, S. F. (2005). Prospects of genetic engineering of plants for phytoremediation of toxic metals. *Biotechnology Advances*, 23(2), 97–114.
- Egli, M., Sartori, G., Mirabella, A., Giaccari, D., Favilli, F., Scherrer, D., Krebs, R., & Delbos, E. (2010). The influence of weathering and organic matter on heavy metals lability in silicatic, Alpine soils. *Science of the Total Environment*, 408(4), 931–946.
- Elobeid, M., Göbel, C., Feussner, I., & Polle, A. (2012). Cadmium interferes with auxin physiology and lignification in poplar. *Journal of Experimental Botany*, 63(3), 1413–1421.
- Elser, J. J., Sterner, R. W., Gorokhova, E., Fagan, W. F., Markow, T. A., Cotner, J. B., Harrison, J. F., Hobbie, S. E., Odell, G. M., & Weider, L. W. (2000). Biological stoichiometry from genes to ecosystems. *Ecology Letters*, 3(6), 540–550.

- Elzahabi, M., & Yong, R. N. (2001). pH influence on sorption characteristics of heavy metal in the vadose zone. *Engineering Geology*, 60(1), 61–68.
- Enriquez, S., Duarte, C. M., & Sand-Jensen, K. (1993). Patterns in decomposition rates among photosynthetic organisms: the importance of detritus C: N: P content. *Oecologia*, 94(4), 457–471.
- Fai, P. B., Grant, A., & Reid, B. (2007). Chlorophyll a fluorescence as a biomarker for rapid toxicity assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26(7), 1520–1531.
- Felske, A., Akkermans, A. D., & De Vos, W. M. (1998). Quantification of 16S rRNAs in complex bacterial communities by multiple competitive reverse transcription-PCR in temperature gradient gel electrophoresis fingerprints. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(11), 4581–4587.
- Fliessbach, A., Martens, R., & Reber, H. H. (1994). Soil microbial biomass and microbial activity in soils treated with heavy metal contaminated sewage sludge. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(9), 1201–1205.
- Frost, P. C., Evans-White, M. A., Finkel, Z. V., Jensen, T. C., & Matzek, V. (2005). Are you what you eat? Physiological constraints on organismal stoichiometry in an elementally imbalanced world. *Oikos*, 109(1), 18–28.
- Fuhrer, J. (1982). Early effects of excess cadmium uptake in *Phaseolus vulgaris*. *Plant, Cell & Environment*, 5(4), 263–270.
- Gage, M. J., Bruenn, J., Fischer, M., Sanders, D., & Smith, T. J. (2001). KP4 fungal toxin inhibits growth in *Ustilago maydis* by blocking calcium uptake. *Molecular Microbiology*, 41(4), 775–785.
- Gallego, S. M., Pena, L. B., Barcia, R. A., Azpilicueta, C. E., Iannone, M. F., Rosales, E. P., Zawoznik, M. S., Groppa, M. D., & Benavides, M. P. (2012). Unravelling cadmium

- toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. *Environmental and Experimental Botany*, 83, 33–46.
- Garcia-Palacios, P., Maestre, F. T., Kattge, J., & Wall, D. H. (2013). Climate and litter quality differently modulate the effects of soil fauna on litter decomposition across biomes. *Ecology Letters*, 16(8), 1045–1053.
- Gendre, D., Czernic, P., Conéjéro, G., Pianelli, K., Briat, J.-F., Lebrun, M., & Mari, S. (2006). TcYSL3, a member of the YSL gene family from the hyper-accumulator *Thlaspi caerulescens*, encodes a nicotianamine-Ni/Fe transporter. *The Plant Journal*, 49(1), 1–15.
- Gessner, M. O., & Chauvet, E. (2002). A case for using litter breakdown to assess functional stream integrity. *Ecological Applications*, 12(2), 498–510.
- Gessner, M. O., Swan, C. M., Dang, C. K., McKie, B. G., Bardgett, R. D., Wall, D. H., & Hättenschwiler, S. (2010). Diversity meets decomposition. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(6), 372–380.
- Gholz, H. L., Wedin, D. A., Smitherman, S. M., Harmon, M. E., & Parton, W. J. (2000). Long-term dynamics of pine and hardwood litter in contrasting environments: toward a global model of decomposition. *Global Change Biology*, 6(7), 751–765.
- Giller, K. E., Witter, E., & McGrath, S. P. (2009). Heavy metals and soil microbes. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(10), 2031–2037.
- Goulas, Y., Cerovic, Z. G., Cartelat, A., & Moya, I. (2004). Dualex: a new instrument for field measurements of epidermal ultraviolet absorbance by chlorophyll fluorescence. *Applied Optics*, 43(23), 4488–4496.
- Graça, M. A. S., Bärlocher, F., & Gessner, M. O. (2005). *Methods to study litter decomposition: a practical guide*. Springer.
- Grime, J. P. (1974). Vegetation classification by reference to strategies. *Nature*, 250, 26–31.

- Grime, J. P., Cornelissen, J. (Hans) H. C., Thompson, K., & Hodgson, J. G. (1996). Evidence of a Causal Connection between Anti-Herbivore Defence and the Decomposition Rate of Leaves. *Oikos*, 77(3), 489–494.
- Guerin, W. F., & Boyd, S. A. (1992). Differential bioavailability of soil-sorbed naphthalene to two bacterial species. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(4), 1142–1152.
- Guerinot, M. L. (2000). The ZIP family of metal transporters. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1465(1), 190–198.
- Guggenberger, G. (2005). Humification and Mineralization in Soils. In A. Varma & F. Buscot (eds.), *Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions* (Vol. 3, pp. 85–106). Springer Berlin Heidelberg.
- Güsewell, S., & Gessner, M. O. (2009). N: P ratios influence litter decomposition and colonization by fungi and bacteria in microcosms. *Functional Ecology*, 23(1), 211–219.
- Güsewell, S., & Verhoeven, J. T. (2006). Litter N: P ratios indicate whether N or P limits the decomposability of graminoid leaf litter. *Plant and Soil*, 287(1-2), 131–143.
- Gussarsson, M. (1994). Cadmium-induced alterations in nutrient composition and growth of betula pendula seedlings: The significance of fine roots as a primary target for cadmium toxicity. *Journal of Plant Nutrition*, 17(12), 2151–2163.
- Hagerman, A. E. (2002). *Tannin Handbook*. Miami University. Oxford OH.
- Hagerman, A. E., Riedl, K. M., Jones, G. A., Sovik, K. N., Ritchard, N. T., Hartzfeld, P. W., & Riechel, T. L. (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1887–1892.

- Haimi, J., & Mätäsniemi, L. (2002). Soil decomposer animal community in heavy-metal contaminated coniferous forest with and without liming. *European Journal of Soil Biology*, 38(2), 131–136.
- Hall, J. L. (2002). Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 53(366), 1–11.
- Handa, I. T., Aerts, R., Berendse, F., Berg, M. P., Bruder, A., Butenschoen, O., Chauvet, E., Gessner, M. O., Jabiol, J., & Makkonen, M. (2014). Consequences of biodiversity loss for litter decomposition across biomes. *Nature*, 509(7499), 218–221.
- Hansen, R. A. (2000). Effects of habitat complexity and composition on a diverse litter microarthropod assemblage. *Ecology*, 81(4), 1120–1132.
- Hanson, H. C. (1917). Leaf-Structure as Related to Environment. *American Journal of Botany*, 4(9), 533–560.
- Harrison, A. F. (1971). The inhibitory effect of oak leaf litter tannins on the growth of fungi, in relation to litter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, 3(3), 167–172.
- Hassinen, V. H., Tervahauta, A. I., Schat, H., & Kärenlampi, S. O. (2011). Plant metallothioneins—metal chelators with ROS scavenging activity? *Plant Biology*, 13(2), 225–232.
- Hättenschwiler, S., Aeschlimann, B., Coûteaux, M.-M., Roy, J., & Bonal, D. (2008). High variation in foliage and leaf litter chemistry among 45 tree species of a neotropical rainforest community. *New Phytologist*, 179(1), 165–175.
- Hättenschwiler, S., & Bretscher, D. (2001). Isopod effects on decomposition of litter produced under elevated CO₂, N deposition and different soil types. *Global Change Biology*, 7(5), 565–579.

- Hättenschwiler, S., Hagerman, A. E., & Vitousek, P. M. (2003). Polyphenols in litter from tropical montane forests across a wide range in soil fertility. *Biogeochemistry*, 64(1), 129–148.
- Hättenschwiler, S., & Jørgensen, H. B. (2010). Carbon quality rather than stoichiometry controls litter decomposition in a tropical rain forest. *Journal of Ecology*, 98(4), 754–763.
- Hättenschwiler, S., & Vitousek, P. M. (2000). The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *Trends in Ecology & Evolution*, 15(6), 238–243.
- Hedde, M., Bureau, F., Akpa-Vinceslas, M., Aubert, M., & Decaëns, T. (2007). Beech leaf degradation in laboratory experiments: effects of eight detritivorous invertebrate species. *Applied Soil Ecology*, 35(2), 291–301.
- Hendrix, P. F., Parmelee, R. W., Crossley, D. A., Coleman, D. C., Odum, E. P., & Groffman, P. M. (1986). Detritus food webs in conventional and no-tillage agroecosystems. *Bioscience*, 374–380.
- Hermle, S., Günthardt-Goerg, M. S., & Schulin, R. (2006). Effects of metal-contaminated soil on the performance of young trees growing in model ecosystems under field conditions. *Environmental Pollution*, 144(2), 703–714.
- Hobbelen, P. H., Koolhaas, J. E., & van Gestel, C. A. (2006). Effects of heavy metals on the litter consumption by the earthworm *Lumbricus rubellus* in field soils. *Pedobiologia*, 50(1), 51–60.
- Hobbie, S. E. (2000). Interactions between litter lignin and nitrogen litter lignin and soil nitrogen availability during leaf litter decomposition in a Hawaiian montane forest. *Ecosystems*, 3(5), 484–494.
- Hodgson, J. G., Wilson, P. J., Hunt, R., Grime, J. P., & Thompson, K. (1999). Allocating CSR plant functional types: a soft approach to a hard problem. *Oikos*, 282–294.

- Holling, C. S. (1973). Resilience and Stability of Ecological Systems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 4(ArticleType: research-article / Full publication date: 1973 / Copyright © 1973 Annual Reviews), 1–23.
- Holling, C. S., Schindler, D. W., Walker, B. W., & Roughgarden, J. (1995). Biodiversity in the functioning of ecosystems: an ecological synthesis. *Biodiversity Loss: Economic and Ecological Issues*, 44–83.
- Hopkin, S. P., Watson, K., Martin, M. H., & Mould, M. L. (1985). The assimilation of heavy metals by *Lithobius variegatus* and *Glomeris marginata* (Chilopoda; Diplopoda). *Bijdragen Tot De Dierkunde*, 55(1), 88–94.
- Houba, V. J. G., Novozamsky, I., Lexmond, T. M., & Van der Lee, J. J. (1990). Applicability of 0.01 M CaCl₂ as a single extraction solution for the assessment of the nutrient status of soils and other diagnostic purposes. *Communications in Soil Science & Plant Analysis*, 21(19-20), 2281–2290.
- Huot. (2013). *Formation, fonctionnement et évolution d'un technosol sur des boues sidérurgiques*. Université de lorraine, Nancy.
- Huot, H., Simonnot, M. O., Marion, P., Yvon, J., De Donato, P., & Morel, J. L. (2013a). Characteristics and potential pedogenetic processes of a Technosol developing on iron industry deposits. *Journal of Soils and Sediments*, 3(13), 555–568.
- Huot, H., Simonnot, M. O., Watteau, F., Marion, P., Yvon, J., De Donato, P., & Morel, J. L. (2013b). Early transformation and transfer processes in a Technosol developing on iron industry deposits. *European Journal of Soil Science*.
- Hutchinson, G. E. (1957). Cold spring harbor symposium on quantitative biology. *Concluding Remarks*, 22, 415–427.
- Ivanova, L. A., Ronzhina, D. A., Ivanov, L. A., Stroukova, L. V., Peuke, A. D., & Rennenberg, H. (2011). Over-expression of *gsh1* in the cytosol affects the

- photosynthetic apparatus and improves the performance of transgenic poplars on heavy metal-contaminated soil. *Plant Biology*, 13(4), 649–659.
- Jabiol, B., Girard, M.-C., & Schwartz, C. (2011). *Etude des sols-Description, cartographie, utilisation: Description, cartographie, utilisation*. Dunod.
- Jaccard, P. (1908). Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bulletin De La Societe Vaudoise Des Sciences Naturelles*, 44, 223–270.
- Jarvis, P. J. (2000). Biological invasions, competition and the niche. In *Ecological Principles and Environmental issues* (pp. 244–274). Pearson Education.
- Johnson, D., & Hale, B. (2004). White birch (*Betula papyrifera* Marshall) foliar litter decomposition in relation to trace metal atmospheric inputs at metal-contaminated and uncontaminated sites near Sudbury, Ontario and Rouyn-Noranda, Quebec, Canada. *Environmental Pollution*, 127(1), 65–72.
- Joose, E. N., & Buker, J. B. (1979). Uptake and excretion of lead by liter-dwelling collembola. *Environmental Pollution (1970)*, 18(3), 235–240.
- Juste, C. (1988). Appréciation de la mobilité et de la biodisponibilité des éléments en traces du sol. *Science Du Sol*, 26(2), 103–112.
- Kabala, C., & Szerszeń, L. (2002). Profile distributions of lead, zinc, and copper in Dystric Cambisols developed from granite and gneiss of the Sudetes Mountains, Poland. *Water, Air, and Soil Pollution*, 138(1-4), 307–317.
- Kalbitz, K., Solinger, S., Park, J.-H., Michalzik, B., & Matzner, E. (2000). Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils: a review. *Soil Science*, 165(4), 277–304.
- Keeler, B. L., Hobbie, S. E., & Kellogg, L. E. (2009). Effects of long-term nitrogen addition on microbial enzyme activity in eight forested and grassland sites: implications for litter and soil organic matter decomposition. *Ecosystems*, 12(1), 1–15.

- Khan, M., & Scullion, J. (2002). Effects of metal (Cd, Cu, Ni, Pb or Zn) enrichment of sewage-sludge on soil micro-organisms and their activities. *Applied Soil Ecology*, 20(2), 145–155.
- Kieffer, P., Dommès, J., Hoffmann, L., Hausman, J.-F., & Renaut, J. (2008a). Quantitative changes in protein expression of cadmium-exposed poplar plants. *Proteomics*, 8(12), 2514–2530.
- Kieffer, P., Planchon, S., Oufir, M., Ziebel, J., Dommès, J., Hoffmann, L., Hausman, J.-F., & Renaut, J. (2008b). Combining proteomics and metabolite analyses to unravel cadmium stress-response in poplar leaves. *Journal of Proteome Research*, 8(1), 400–417.
- Klein, D. A., & Paschke, M. W. (2004). Filamentous fungi: the indeterminate lifestyle and microbial ecology. *Microbial Ecology*, 47(3), 224–235.
- Köhler, H.-R. (2002). Localization of metals in cells of saprophagous soil arthropods (Isopoda, Diplopoda, Collembola). *Microscopy Research and Technique*, 56(5), 393–401.
- Köhler, H.-R., Körtje, K.-H., & Alberti, G. (1995). Content, absorption quantities and intracellular storage sites of heavy metals in Diplopoda (Arthropoda). *BioMetals*, 8(1), 37–46.
- Koricheva, J., Larsson, S., Haukioja, E., & Keinänen, M. (1998). Regulation of woody plant secondary metabolism by resource availability: hypothesis testing by means of meta-analysis. *Oikos*, 212–226.
- Kuka, K., Franko, U., & Rühlmann, J. (2007). Modelling the impact of pore space distribution on carbon turnover. *Ecological Modelling*, 208(2), 295–306.
- Lambers, H., Chapin, F. S., & Pons, T. L. (2008). *Plant physiological ecology* (second). Springer Science+Business Media, LLC.

- Lamprey, H. F. (1988). Report on the desert encroachment reconnaissance in northern Sudan: 21 October to 10 November 1975. *Desertification Control Bulletin*.
- Lavelle, P. (1988). Earthworm activities and the soil system. *Biology and Fertility of Soils*, 6(3), 237–251.
- Lecerf, A., & Chauvet, E. (2008). Intraspecific variability in leaf traits strongly affects alder leaf decomposition in a stream. *Basic and Applied Ecology*, 9(5), 598–605.
- Lee, K. E. (1985). *Earthworms: their ecology and relationships with soils and land use*. Academic Press Inc.
- Li, D., Alic, M., Brown, J. A., & Gold, M. H. (1995). Regulation of manganese peroxidase gene transcription by hydrogen peroxide, chemical stress, and molecular oxygen. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(1), 341–345.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymology*, pp. 350–382.
- Lingua, G., Franchin, C., Todeschini, V., Castiglione, S., Biondi, S., Burlando, B., Parravicini, V., Torrigiani, P., & Berta, G. (2008). Arbuscular mycorrhizal fungi differentially affect the response to high zinc concentrations of two registered poplar clones. *Environmental Pollution*, 153(1), 137–147.
- Liu, Y.-J., Zhu, Y.-G., & Ding, H. (2007). Lead and cadmium in leaves of deciduous trees in Beijing, China: Development of a metal accumulation index (MAI). *Environmental Pollution*, 145(2), 387–390.
- Loponen, J., Lempa, K., Ossipov, V., Kozlov, M. V., Girs, A., Hangasmaa, K., Haukioja, E., & Pihlaja, K. (2001). Patterns in content of phenolic compounds in leaves of mountain birches along a strong pollution gradient. *Chemosphere*, 45(3), 291–301.

- Loranger, G., Ponge, J.-F., Imbert, D., & Lavelle, P. (2002). Leaf decomposition in two semi-evergreen tropical forests: influence of litter quality. *Biology and Fertility of Soils*, 35(4), 247–252.
- Lorenz, N., Hintemann, T., Kramarewa, T., Katayama, A., Yasuta, T., Marschner, P., & Kandeler, E. (2006). Response of microbial activity and microbial community composition in soils to long-term arsenic and cadmium exposure. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(6), 1430–1437.
- Louault, F., Pillar, V. D., Aufrere, J., Garnier, E., & Soussana, J.-F. (2005). Plant traits and functional types in response to reduced disturbance in a semi-natural grassland. *Journal of Vegetation Science*, 16(2), 151–160.
- Lucisine, P., Lecerf, A., Danger, M., Felten, V., Aran, D., Auclerc, A., Gross, E. M., Huot, H., Morel, J.-L., Muller, S., Nahmani, J., & Maunoury-Danger, F. (2015). Litter chemistry prevails over litter consumers in mediating effects of past steel industry activities on leaf litter decomposition. *Science of The Total Environment*, 537, 213–224.
- Ma, J. F., Ryan, P. R., & Delhaize, E. (2001). Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids. *Trends in Plant Science*, 6(6), 273–278.
- Ma, W. (1984). Sublethal toxic effects of copper on growth, reproduction and litter breakdown activity in the earthworm *Lumbricus rubellus*, with observations on the influence of temperature and soil pH. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*, 33(3), 207–219.
- Ma, W. (1988). Toxicity of copper to lumbricid earthworms in sandy agricultural soils amended with Cu-enriched organic waste materials. *Ecological Bulletins*, 53–56.
- Mäser, P., Thomine, S., Schroeder, J. I., Ward, J. M., Hirschi, K., Sze, H., Talke, I. N., Amtmann, A., Maathuis, F. J., & Sanders, D. (2001). Phylogenetic relationships

- within cation transporter families of Arabidopsis. *Plant Physiology*, 126(4), 1646–1667.
- Masscheleyn, P. H., Delaune, R. D., & Patrick Jr, W. H. (1991). Effect of redox potential and pH on arsenic speciation and solubility in a contaminated soil. *Environmental Science & Technology*, 25(8), 1414–1419.
- Mattson Jr, W. J. (1980). Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 119–161.
- McDonald, M., Mila, I., & Scalbert, A. (1996). Precipitation of metal ions by plant polyphenols: optimal conditions and origin of precipitation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(2), 599–606.
- McEnroe, N. A., & Helmisaari, H.-S. (2001). Decomposition of coniferous forest litter along a heavy metal pollution gradient, south-west Finland. *Environmental Pollution*, 113(1), 11–18.
- McGrath, S. P., Zhao, F. J., & Lombi, E. (2001). Plant and rhizosphere processes involved in phytoremediation of metal-contaminated soils. *Plant and Soil*, 232(1-2), 207–214.
- Meentemeyer, V. (1978). Macroclimate and lignin control of litter decomposition rates. *Ecology*, 59(3), 465–472.
- Meharg, A. A., & Hartley-Whitaker, J. (2002). Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist*, 154(1), 29–43.
- Meharg, A. A., & Macnair, M. R. (1992). Suppression of the high affinity phosphate uptake system: a mechanism of arsenate tolerance in *Holcus lanatus* L. *Journal of Experimental Botany*, 43(4), 519–524.
- Melillo, J. M., Aber, J. D., & Muratore, J. F. (1982). Nitrogen and lignin control of hardwood leaf litter decomposition dynamics. *Ecology*, 63(3), 621–626.

- Mertens, J., Vervaeke, P., De Schrijver, A., & Luysaert, S. (2004). Metal uptake by young trees from dredged brackish sediment: limitations and possibilities for phytoextraction and phytostabilisation. *Science of the Total Environment*, 326(1), 209–215.
- METEO-France. (2013). *Cervice Central D'exploitation De La Météorologie. 42, Avenue Gustave Coriolis. France.*
- Moore, J. C., Berlow, E. L., Coleman, D. C., Ruitter, P. C., Dong, Q., Hastings, A., Johnson, N. C., McCann, K. S., Melville, K., Morin, P. J., & others. (2004). Detritus, trophic dynamics and biodiversity. *Ecology Letters*, 7(7), 584–600.
- Morel, J. L., Mench, M., & Guckert, A. (1986). Measurement of Pb²⁺, Cu²⁺ and Cd²⁺ binding with mucilage exudates from maize (*Zea mays* L.) roots. *Biology and Fertility of Soils*, 2(1), 29–34.
- Mueller-Dombois, D., & Ellenberg, H. (1974). Aims and methods of vegetation ecology.
- Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., & Sreekanth, T. V. M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 8(3), 199–216.
- Nian, H., Yang, Z. M., Ahn, S. J., Cheng, Z. J., & Matsumoto, H. (2002). A comparative study on the aluminium-and copper-induced organic acid exudation from wheat roots. *Physiologia Plantarum*, 116(3), 328–335.
- Niehaus, J. U., & Gross, G. G. (1997). A gallotannin degrading esterase from leaves of pedunculate oak. *The International Journal of Plant Biochemistry and Molecular Biology*, 45(8), 1555–1560.
- Niinemets, Ü., Kull, O., & Tenhunen, J. D. (2004). Within-canopy variation in the rate of development of photosynthetic capacity is proportional to integrated quantum flux density in temperate deciduous trees. *Plant, Cell & Environment*, 27(3), 293–313.
- Niinemets, Ü., Portsmouth, A., Tena, D., Tobias, M., Matesanz, S., & Valladares, F. (2007). Do we underestimate the importance of leaf size in plant economics? Disproportional

- scaling of support costs within the spectrum of leaf physiognomy. *Annals of Botany*, 100(2), 283–303.
- Niyogi, D. K., Lewis Jr, W. M., & McKnight, D. M. (2001). Litter breakdown in mountain streams affected by mine drainage: biotic mediation of abiotic controls. *Ecological Applications*, 11(2), 506–516.
- O’Connell, D. W., Birkinshaw, C., & O’Dwyer, T. F. (2008). Heavy metal adsorbents prepared from the modification of cellulose: A review. *Bioresource Technology*, 99(15), 6709–6724.
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Kindt, R., Oksanen, M. J., & Suggests, M. (2013). Package “vegan.” *Community Ecology Package Version*, 2, 1–180.
- Olson, J. S. (1963). Energy Storage and the Balance of Producers and Decomposers in Ecological Systems. *Ecology*, 44(2), 322–331.
- Pal, R., & Rai, J. P. N. (2010). Phytochelatins: peptides involved in heavy metal detoxification. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 160(3), 945–963.
- Pallara, G., Todeschini, V., Lingua, G., Camussi, A., & Racchi, M. L. (2013). Transcript analysis of stress defence genes in a white poplar clone inoculated with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and grown on a polluted soil. *Plant Physiology and Biochemistry*, 63, 131–139.
- Pancotto, V. A., Sala, O. E., Robson, T. M., Caldwell, M. M., & Scopel, A. L. (2005). Direct and indirect effects of solar ultraviolet-B radiation on long-term decomposition. *Global Change Biology*, 11(11), 1982–1989.
- Pandolfini, T., Gabbrielli, R., & Comparini, C. (1992). Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. *Plant, Cell & Environment*, 15(6), 719–725.

- Parry, A. D., Tiller, S. A., & Edwards, R. (1994). The effects of heavy metals and root immersion on isoflavonoid metabolism in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Physiology*, *106*(1), 195–202.
- Peters, D. J., & Constabel, C. P. (2002). Molecular analysis of herbivore-induced condensed tannin synthesis: cloning and expression of dihydroflavonol reductase from trembling aspen (*Populus tremuloides*). *The Plant Journal*, *32*(5), 701–712.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., & Team, R. C. (2012). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models, 2012. *R Package Version*, 3.1–105.
- polycyclic Aromatic Hydrocarbons, selected non heterocyclic. (1998). In *Environmental Health Criteria 202*. Geneva: WHO.
- Ponsard, S., Arditì, R., & Jost, C. (2000). Assessing top-down and bottom-up control in a litter-based soil macroinvertebrate food chain. *Oikos*, *89*(3), 524–540.
- Poorter, H., & De Jong, R. O. B. (1999). A comparison of specific leaf area, chemical composition and leaf construction costs of field plants from 15 habitats differing in productivity. *New Phytologist*, *143*(1), 163–176.
- Poorter, H., Niinemets, Ü., Poorter, L., Wright, I. J., & Villar, R. (2009). Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. *New Phytologist*, *182*(3), 565–588.
- Posthuma, L., & Van Straalen, N. M. (1993). Heavy-metal adaptation in terrestrial invertebrates: a review of occurrence, genetics, physiology and ecological consequences. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, *106*(1), 11–38.
- Pottier, M., de la Torre, V. S. G., Victor, C., David, L. C., Chalot, M., & Thomine, S. (2015). Genotypic variations in the dynamics of metal concentrations in poplar leaves: A field study with a perspective on phytoremediation. *Environmental Pollution*, *199*, 73–82.

- Qualls, R. G., & Richardson, C. J. (2000). Phosphorus enrichment affects litter decomposition, immobilization, and soil microbial phosphorus in wetland mesocosms. *Soil Science Society of America Journal*, 64(2), 799–808.
- Quinn, G. P., & Keough, M. J. (2002). *Experimental design and data analysis for biologists*. Cambridge University Press.
- Ranjard, L., Dequiedt, S., Lelievre, M., Maron, P. A., Mougel, C., Morin, F., & Lemanceau, P. (2009). Platform GenoSol: a new tool for conserving and exploring soil microbial diversity. *Environmental Microbiology Reports*, 1(2), 97–99.
- Rascio, N., & Navari-Izzo, F. (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*, 180(2), 169–181.
- Raubenheimer, D., Simpson, S. J., & Mayntz, D. (2009). Nutrition, ecology and nutritional ecology: toward an integrated framework. *Functional Ecology*, 23(1), 4–16.
- Read, H. J., & Martin, M. H. (1990). A study of myriapod communities in woodlands contaminated with heavy metals. In *Proceedings of the 7th International Congress of Myriapodology* (pp. 289–298). Brill.
- Reed, H. E., & Martiny, J. B. (2007). Testing the functional significance of microbial composition in natural communities. *FEMS Microbiology Ecology*, 62(2), 161–170.
- Remon, E., Bouchardon, J.-L., Le Guédard, M., Bessoule, J.-J., Conord, C., & Faure, O. (2013). Are plants useful as accumulation indicators of metal bioavailability? *Environmental Pollution*, 175, 1–7.
- Richau, K. H., Kozhevnikova, A. D., Seregin, I. V., Vooijs, R., Koevoets, P. L., Smith, J. A. C., Ivanov, V. B., & Schat, H. (2009). Chelation by histidine inhibits the vacuolar sequestration of nickel in roots of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *New Phytologist*, 183(1), 106–116.

- Robertson, S. A., Mason, S. L., Hack, E., & Abbott, G. D. (2008). A comparison of lignin oxidation, enzymatic activity and fungal growth during white-rot decay of wheat straw. *Organic Geochemistry*, 39(8), 945–951.
- Sánchez-Moreno, S., & Navas, A. (2007). Nematode diversity and food web condition in heavy metal polluted soils in a river basin in southern Spain. *European Journal of Soil Biology*, 43(3), 166–179.
- Sauve, S., Hendershot, W., & Allen, H. E. (2000). Solid-solution partitioning of metals in contaminated soils: dependence on pH, total metal burden, and organic matter. *Environmental Science & Technology*, 34(7), 1125–1131.
- Scheifler, R., Brahim, M. B., Gomot-de Vaufleury, A., Carnus, J.-M., & Badot, P.-M. (2003). A field method using microcosms to evaluate transfer of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn from sewage sludge amended forest soils to *Helix aspersa* snails. *Environmental Pollution*, 122(3), 343–350.
- Schimel, J. P., & Gulledge, J. A. Y. (1998). Microbial community structure and global trace gases. *Global Change Biology*, 4(7), 745–758.
- Schmidt, M. A., Kreinberg, A. J., Gonzalez, J. M., Halvorson, J. J., French, E., Bollmann, A., & Hagerman, A. E. (2013). Soil microbial communities respond differently to three chemically defined polyphenols. *Plant Physiology and Biochemistry*, 72, 190–197.
- Schmitz, O. J. (2004). Perturbation and abrupt shift in trophic control of biodiversity and productivity. *Ecology Letters*, 7(5), 403–409.
- Schwarzenbach, R. C., Gschwend, P. M., & Imboden, D. M. (2003). *Environmental Organic Chemistry* (2nd ed.). John Wiley and Sons.
- Schweitzer, J. A., Bailey, J. K., Rehill, B. J., Martinsen, G. D., Hart, S. C., Lindroth, R. L., Keim, P., & Whitham, T. G. (2004). Genetically based trait in a dominant tree affects ecosystem processes. *Ecology Letters*, 7(2), 127–134.

- Shields, L. M. (1950). Leaf xeromorphy as related to physiological and structural influences. *The Botanical Review*, 16(8), 399–447.
- Siedlecka, A. (1995). Some aspects of interactions between heavy metals and plant mineral nutrients. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 64(3), 265–272.
- Singer, A. C., Bell, T., Heywood, C. A., Smith, J. A. C., & Thompson, I. P. (2007). Phytoremediation of mixed-contaminated soil using the hyperaccumulator plant *Alyssum lesbiacum*: Evidence of histidine as a measure of phytoextractable nickel. *Environmental Pollution*, 147(1), 74–82.
- Smith, S. E., Christophersen, H. M., Pope, S., & Smith, F. A. (2010). Arsenic uptake and toxicity in plants: integrating mycorrhizal influences. *Plant and Soil*, 327(1-2), 1–21.
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2010). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic press.
- Sohlenius, B. (1990). Influence of cropping system and nitrogen input on soil fauna and microorganisms in a Swedish arable soil. *Biology and Fertility of Soils*, 9(2), 168–173.
- Sousa, W. P. (1985). Disturbance and patch dynamics on rocky intertidal shores.
- Spurgeon, D. J., & Hopkin, S. P. (1996). Effects of Metal-Contaminated Soils on the Growth, Sexual Development, and Early Cocoon Production of the Earthworm *Eisenia fetida*, with Particular Reference to Zinc. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 35(1), 86–95.
- Spurgeon, D. J., & Hopkin, S. P. (1999). Tolerance to zinc in populations of the earthworm *Lumbricus rubellus* from uncontaminated and metal-contaminated ecosystems. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 37(3), 332–337.
- Spurgeon, D. J., Svendsen, C., Rimmer, V. R., Hopkin, S. P., & Weeks, J. M. (2000). Relative sensitivity of life-cycle and biomarker responses in four earthworm species exposed to zinc. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(7), 1800–1808.

- Sterner, R. W., & Schulz, K. L. (1998). Zooplankton nutrition: recent progress and a reality check. *Aquatic Ecology*, 32(4), 261–279.
- Stevens, M. T., & Lindroth, R. L. (2005). Induced resistance in the indeterminate growth of aspen (*Populus tremuloides*). *Oecologia*, 145(2), 297–305.
- Stoláriková, M., Vaculík, M., Lux, A., Di Baccio, D., Minnocci, A., Andreucci, A., & Sebastiani, L. (2012). Anatomical differences of poplar (*Populus* × *euramericana* clone I-214) roots exposed to zinc excess. *Biologia*, 67(3), 483–489.
- Strickland, M. S., Lauber, C., Fierer, N., & Bradford, M. A. (2009). Testing the functional significance of microbial community composition. *Ecology*, 90(2), 441–451.
- Swift, M. J., Heal, O. W., & Anderson, J. M. (1979). *Decomposition in terrestrial ecosystems* (Vol. 5). Univ of California Press.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Fisiologia vegetal* (Vol. 10). Universitat Jaume I.
- Tajovsky, K., Santruckova, H., Hanel, L., Balik, V., & Lukesova, A. (1992). Decomposition of faecal pellets of the millipede *Glomeris hexasticha* (Diplopoda) in forest soil. *Pedobiologia*, 36(3), 146–158.
- Tansley, A. G. (1935). The use and abuse of vegetational concepts and terms. *Ecology*, 16(3), 284–307.
- Todeschini, V., Franchin, C., Castiglione, S., Burlando, B., Biondi, S., Torrigiani, P., Berta, G., & Lingua, G. (2007). Responses to copper of two registered poplar clones inoculated or not with arbuscular mycorrhizal fungi. *Caryologia*, 60(1-2), 146–155.
- Trevan, J. W. (1927). The error of determination of toxicity. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character*, 483–514.
- trouvelot, A., Kough, J. L., & Gianinazzi-Pearson, V. (1986). Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherches et méthodes d'estimation

- ayant une signification fonctionnelle. In *Mycorrhizes : physiologie et génétique* (pp. 217–220). Dijon, INRA.
- Turer, D. G., & Maynard, B. J. (2003). Heavy metal contamination in highway soils. Comparison of Corpus Christi, Texas and Cincinnati, Ohio shows organic matter is key to mobility. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 4(4), 235–245.
- Underwood, E. J. (1977). 8 - Zinc. In E. J. Underwood (Ed.), *Trace Elements in Human and Animal Nutrition (Fourth Edition)* (pp. 196–242). Academic Press.
- Unterbrunner, R., Puschenreiter, M., Sommer, P., Wieshammer, G., Tlustoš, P., Zupan, M., & Wenzel, W. W. (2007). Heavy metal accumulation in trees growing on contaminated sites in Central Europe. *Environmental Pollution*, 148(1), 107–114.
- Van Beelen, P., & Doelman, P. (1997). Significance and application of microbial toxicity tests in assessing ecotoxicological risks of contaminants in soil and sediment. *Chemosphere*, 34(3), 455–499.
- Van Bellegem, F., Cuypers, A., Semane, B., Smeets, K., Vangronsveld, J., d' Haen, J., & Valcke, R. (2007). Subcellular localization of cadmium in roots and leaves of *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, 173(3), 495–508.
- van den Brink, N., Lammertsma, D., Dimmers, W., Boerwinkel, M.-C., & van der Hout, A. (2010). Effects of soil properties on food web accumulation of heavy metals to the wood mouse (*Apodemus sylvaticus*). *Environmental Pollution*, 158(1), 245–251.
- Van Nevel, L., Mertens, J., Demey, A., De Schrijver, A., De Neve, S., Tack, F. M., & Verheyen, K. (2014). Metal and nutrient dynamics in decomposing tree litter on a metal contaminated site. *Environmental Pollution*, 189, 54–62.
- Van Straalen, N. M., & Verweij, R. A. (1991). Effects of benzo (a) pyrene on food assimilation and growth efficiency in *Porcellio scaber* (Isopoda). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 46(1), 134–140.

- Vandecasteele, B., Quataert, P., Genouw, G., Lettens, S., & Tack, F. M. (2009). Effects of willow stands on heavy metal concentrations and top soil properties of infrastructure spoil landfills and dredged sediment-derived sites. *Science of the Total Environment*, *407*(20), 5289–5297.
- Vandecasteele, B., Samyn, J., De Vos, B., & Muys, B. (2008). Effect of tree species choice and mineral capping in a woodland phytostabilisation system: A case-study for calcareous dredged sediment landfills with an oxidised topsoil. *Ecological Engineering*, *32*(3), 263–273.
- Verbruggen, N., Hermans, C., & Schat, H. (2009). Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants. *New Phytologist*, *181*(4), 759–776.
- Villegas, J. C., Breshears, D. D., Zou, C. B., & Law, D. J. (2010). Ecohydrological controls of soil evaporation in deciduous drylands: how the hierarchical effects of litter, patch and vegetation mosaic cover interact with phenology and season. *Journal of Arid Environments*, *74*(5), 595–602.
- Vincent, J. M. (1962). Influence of calcium and magnesium on the growth of Rhizobium. *Journal of General Microbiology*, *28*(4), 653–663.
- Visioli, G., Menta, C., Gardi, C., & Conti, F. D. (2013). Metal toxicity and biodiversity in serpentine soils: Application of bioassay tests and microarthropod index. *Chemosphere*, *90*(3), 1267–1273.
- Vitousek, P. M. (1998). Foliar and Litter Nutrients, Nutrient Resorption, and Decomposition in Hawaiian *Metrosideros polymorpha*. *Ecosystems*, *1*(4), 401–407.
- Vitousek, P. M., Turner, D. R., Parton, W. J., & Sanford, R. L. (1994). Litter decomposition on the Mauna Loa environmental matrix, Hawai'i: patterns, mechanisms, and models. *Ecology*, 418–429.

- Vos, V. C., van Ruijven, J., Berg, M. P., Peeters, E. T., & Berendse, F. (2011). Macro-detritivore identity drives leaf litter diversity effects. *Oikos*, *120*(7), 1092–1098.
- Wagner, N. D., Hillebrand, H., Wacker, A., & Frost, P. C. (2013). Nutritional indicators and their uses in ecology. *Ecology Letters*, *16*(4), 535–544.
- Waldrop, M. P., Zak, D. R., Sinsabaugh, R. L., Gallo, M., & Lauber, C. (2004). Nitrogen deposition modifies soil carbon storage through changes in microbial enzymatic activity. *Ecological Applications*, *14*(4), 1172–1177.
- Walela, C., Daniel, H., Wilson, B., Lockwood, P., Cowie, A., & Harden, S. (2014). The initial lignin: nitrogen ratio of litter from above and below ground sources strongly and negatively influenced decay rates of slowly decomposing litter carbon pools. *Soil Biology and Biochemistry*, *77*, 268–275.
- Walker, C. H. (2009a). *Organic pollutants An Ecotoxicological Perspective* (2nd ed.). CRC Press.
- Walker, C. H. (2009b). Polycyclic Aromatic Hydrocarbon. In *Organic Pollutants An Ecotoxicological Perspective* (2nd ed., pp. 181–191). CRC Press.
- Wall, D. H., Bradford, M. A., ST. John, M. G., Gullede, J. A. Y., Behan-peltier, V., Bignel, D. E., Dangerfield, J. M., Parton, W. J., & Rusek, J. (2008). Global decomposition experiment shows soil animal impacts on decomposition are climate-dependent. *Global Change Biology*, *14*(11), 2661–2677.
- Wall, D. H., & Virginia, R. A. (1999). Controls on soil biodiversity: insights from extreme environments. *Applied Soil Ecology*, *13*(2), 137–150.
- Wardle, D. A., Bardgett, R. D., Klironomos, J. N., Setälä, H., Van Der Putten, W. H., & Wall, D. H. (2004). Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, *304*(5677), 1629–1633.

- Weis, J. S., & Weis, P. (2004). Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration. *Environment International*, 30(5), 685–700.
- Williams, L. E., Pittman, J. K., & Hall, J. L. (2000). Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1465(1), 104–126.
- Williams, & Mattson. (1980). Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 119–161.
- Wood, C. M. (2011). 1 - An introduction to metals in fish physiology and toxicology: basic principles. In A. P. F. and C. J. B. Chris M. Wood (Ed.), *Fish Physiology* (Vol. Volume 31, Part A, pp. 1–51). Academic Press.
- Woodward, G., Gessner, M. O., Giller, P. S., Gulis, V., Hladyz, S., Lecerf, A., Malmqvist, B., McKie, B. G., Tiegs, S. D., Cariss, H., Dobson, M., Eloegi, A., Ferreira, V., Graça, M. A. S., Fleituch, T., Lacoursière, J. O., Nistorescu, M., Pozo, J., Risnoveanu, G., Schindler, M., Vadineanu, A., Vought, L. B.-M., & Chauvet, E. (2012). Continental-Scale Effects of Nutrient Pollution on Stream Ecosystem Functioning. *Science*, 336(6087), 1438–1440.
- Wright, I. J., Reich, P. B., Westoby, M., Ackerly, D. D., Baruch, Z., Bongers, F., Cavender-Bares, J., Chapin, T., Cornelissen, J. H., Diemer, M., & others. (2004). The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, 428(6985), 821–827.
- Wright, I. J., & Westoby, M. (2003). Nutrient concentration, resorption and lifespan: leaf traits of Australian sclerophyll species. *Functional Ecology*, 17(1), 10–19.
- Yang, X., Feng, Y., He, Z., & Stoffella, P. J. (2005). Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18(4), 339–353.

- Yang, X., Yang, Z., Warren, M. W., & Chen, J. (2012). Mechanical fragmentation enhances the contribution of Collembola to leaf litter decomposition. *European Journal of Soil Biology*, 53, 23–31.
- Yue, M., Li, Y., & Wang, X. (1998). Effects of enhanced ultraviolet-B radiation on plant nutrients and decomposition of spring wheat under field conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 40(3), 187–196.
- Zhang, D., Hui, D., Luo, Y., & Zhou, G. (2008). Rates of litter decomposition in terrestrial ecosystems: global patterns and controlling factors. *Journal of Plant Ecology*, 1(2), 85–93.
- Zhang, F., Wan, X., Zheng, Y., Sun, L., Chen, Q., Guo, Y., Zhu, X., & Liu, M. (2014). Physiological and related anthocyanin biosynthesis genes responses induced by cadmium stress in a new colored-leaf plant “Quanhong Poplar.” *Agroforestry Systems*, 88(2), 343–355.
- Zuur, A., Ieno, E. N., Walker, N., Saveliev, A. A., & Smith, G. M. (2009). *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Springer.

Annexes

Résumé de rapport de stage de Master 2 : Adeline Janus

En France, de plus en plus de sites sont considérés comme étant contaminés, notamment par les métaux. La contamination métallique peut affecter différents processus écosystémiques, notamment en inhibant la décomposition de la litière. Cependant, certains sites ne réagissent pas de la même manière : c'est le cas de la forêt de Pompey où la décomposition de la litière est plus rapide malgré une contamination du sol en cadmium, zinc et plomb et une contamination des feuilles en cadmium et zinc. Le but de cette étude est d'évaluer l'impact de la contamination de litière végétale sur deux espèces de détritivores : le ver de terre *Aporrectodea giardi* et le diplopode *Glomeris marginata*.

Les résultats montrent une accumulation du zinc ainsi qu'une plus forte consommation de la litière contaminée par *Glomeris marginata*. Cependant, malgré cette forte consommation, le gain de masse des diplopodes n'est pas différent des autres traitements. Ces résultats pourraient alors être expliqués par une diminution du taux d'assimilation. De plus, une accumulation du cadmium et du zinc dans les fèces de *Glomeris marginata* a été observé, démontrant des phénomènes d'excrétion de ces métaux. Concernant le ver *Aporrectodea giardi*, aucun effet n'a été observé sur la biomasse, la consommation et la concentration en métaux. Enfin, une augmentation de l'activité de surface a été démontrée pour les deux espèces en cas de contamination de la litière. Pour finir, une seconde expérimentation est actuellement en cours afin de tester l'hypothèse d'une diminution du taux d'assimilation par *Glomeris marginata*.

Résumé de rapport de stage de Master 1 : Adrien Le Navenant

Ce travail avait pour but de caractériser les impacts d'une contamination métallique de la litière sur les détritivores et plus particulièrement sur *Glomeris marginata*. Pour cela, un test de choix a été réalisé afin de mesurer l'appétibilité des litières en fonction d'un gradient de contamination. Les résultats n'ont pas montré de différence significative. En parallèle, un test de consommation a été mis en place dans le but d'évaluer les effets des contaminants sur ces diplopodes et d'identifier les éventuels mécanismes de compensations. En l'état des analyses (tous les résultats ne sont pas encore connus), le delta-biomasse n'est pas significativement différent, et la consommation de litière semble indépendante de la contamination. Cependant, d'autres séries sont encore en cours d'étude, ce qui devrait permettre d'affiner ces résultats. Ce travail a en outre permis l'acquisition de nombreuses données sur le cycle de vie de *G. marginata* dans le but de réaliser ultérieurement un modèle DebKISS. L'obtention de juvéniles devrait permettre une étude plus précise de cet organisme jusqu'alors assez méconnu.

Résumé

Les sols des friches industrielles sont souvent multi-pollués et représentent des surfaces toujours plus importantes présentant de forts enjeux sociaux-économiques. Leur réhabilitation passe par une bonne compréhension du fonctionnement écologique des sols, qui, en plus d'être pollués, présentent des structures et des teneurs en nutriments souvent inhabituelles. Malgré cela, une recolonisation par la faune, la flore et les microorganismes est généralement observée. La capacité de ces nouvelles communautés à restaurer et maintenir les fonctions clés des sols reste à évaluer, et cela semble indissociable de la mesure d'une ou plusieurs fonctions écosystémiques. La décomposition de la litière est un processus écosystémique clef permettant la réalisation des cycles biogéochimiques du carbone et des nutriments. Les processus de la décomposition dépendent à la fois de ses acteurs (faune et microorganismes) et de la qualité de la litière végétale. De ce fait, la réponse de cette fonction écosystémique à la pollution du sol intègre les effets de cette pollution sur les communautés de plantes, d'animaux, et de microorganismes, ce qui en fait un indicateur potentiellement pertinent pour évaluer les effets de la pollution sur le fonctionnement des écosystèmes du sol.

L'objectif central de cette thèse a donc été d'étudier le fonctionnement des friches industrielles en se focalisant sur les effets délétères de la pollution des sols sur la décomposition de la litière de feuilles. L'hypothèse centrale découlant de cet objectif a été que la pollution des sols pouvait impacter la décomposition par deux voies d'action. (1) La première voie, directe, est constituée de l'ensemble des effets délétères que pourraient provoquer les polluants sur les acteurs de la décomposition dont dépend la bonne réalisation de cette fonction. (2) Concernant la deuxième voie d'action, nous avons supposé que la pollution, en entraînant des modifications de la physiologie des plantes, pouvait modifier les

paramètres physico-chimiques de la litière et ainsi impacter de façon indirecte la décomposition des litières.

Nos résultats ont permis de montrer l'absence de l'effet direct pour huit friches industrielles fortement polluées, et ce malgré des perturbations des communautés d'acteurs, avec notamment une augmentation de l'abondance des détritivores et une modification de la colonisation microbienne des litières sur les sites pollués. Ces résultats plaident en faveur d'une redondance fonctionnelle suffisante au sein de ces communautés, permettant de maintenir le processus de décomposition. Nous avons également montré un effet indirect positif de la pollution sur la décomposition. Cet effet résulte de l'amélioration systématique de la qualité de la litière, entraînant dans certains cas une augmentation de l'activité des acteurs de la décomposition. Par ailleurs, nous avons également montré une accumulation des polluants dans ces mêmes litières, en particulier le Zn et le Cd, polluants pouvant potentiellement produire des effets délétères sur les acteurs de la décomposition. Toutefois, la présence de ces ETM n'a pas semblé influencer la consommation des litières par certains acteurs de la décomposition de la litière. Cependant, ce résultat reste à valider *in situ* en présence de l'ensemble des communautés de détritivores. De nombreuses perspectives s'ouvrent à la suite de ces travaux. Parmi elles, il reste notamment à déterminer 1) quels sont les mécanismes (physiologiques) qui entraînent une augmentation de la qualité des litières produites sur les sols contaminés ? 2) comment des communautés différentes permettent d'assurer des taux de décomposition similaires ? et 3) quels sont les impacts de la consommation des litières provenant des sites contaminés sur le fonctionnement et la physiologie des détritivores ?

Abstract

Brownfield soils are multi-polluted areas, which cover an increasing surface and thus present serious socio-economical challenges. A better understanding of the ecological functioning of these sites is mandatory for their restoration. In addition to the high pollution found at these sites, brownfields are characterized by a specific soil structure and occasionally also by particular nutrient contents. Despite these constraints, several brownfield are well colonized by plants, fauna and microorganisms. The capacity of these new communities to uphold main ecosystem function remains to be evaluated based on the measurement of one or several ecosystem functions. Leaf litter decomposition is critically important in driving carbon and nutrient biogeochemical cycles. This function depends on decomposition actors (fauna and microorganisms) but also on leaf litter quality. By that, leaf litter decomposition integrates effects of soil pollution on plant, animal and microorganism communities. Thus, leaf litter decomposition is a relevant indicator to evaluate pollution effects on the functioning of soil ecosystems.

The main objective of this thesis was to study brownfields soil function by focusing on the impairment of soil pollution on the leaf litter decomposition. The main hypothesis was that soil pollution could negatively affect leaf litter decomposition by two different ways. (1) By direct effects, resulting from adverse effects of soil pollution on decomposition actors, and (2) by indirect effects, assuming that soil pollution will induce modifications of the plant's physiology, resulting in changes in leaf litter quality and subsequent effects on the decomposition.

Our results revealed the absence of direct negative effects for eight highly polluted sites, despite a disturbance of decomposer actors, specifically the increase in abundance of

detritivores and a modified microbial colonization of the leaf litter at the polluted sites. These results are in favor of a sufficient functional redundancy of decomposer actors in the local communities, which allowed the maintenance of the decomposition process. We also showed a positive indirect effect of soil pollution on the decomposition. This effect resulted from the improvement of litter quality produced at the polluted sites. This induced, at least for some sites, an increase of the decomposition rate, possibly due to a higher activity of decomposer actors. Furthermore, we also observed pollutants accumulation in these litter, especially Cd and Zn. These pollutants could potentially impair decomposer actors. Whatever, presence of these pollutants in litter did not impair litter consumption by some detritivores.

Numerous perspectives can be developed from this study. Among them it seems specifically important to evaluate: 1) Which are the (physiological) mechanisms behind the increase in leaf litter quality at polluted sites? 2) How can different communities assure the same decomposition rates at polluted sites?, and 3) Are there negative effects observed on the performance and physiology of detritivores when consuming leaf litter from polluted sites?