



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>



Université de Lorraine
Ecole Doctorale RP2E « Ressources, Procédés, Produits, Environnement »
Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux,
Université de Lorraine - UMR 7360 CNRS
&
Laboratoire Sols et Environnement,
Université de Lorraine - UMR 1120 INRA

Thèse

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre de
Docteur de l'Université de Lorraine
Spécialité « Écotoxicologie, Biodiversité, Écosystèmes »

par **Quentin Vincent**

Etude des paramètres abiotiques, biotiques et fonctionnels, et de leurs interactions dans des sols délaissés

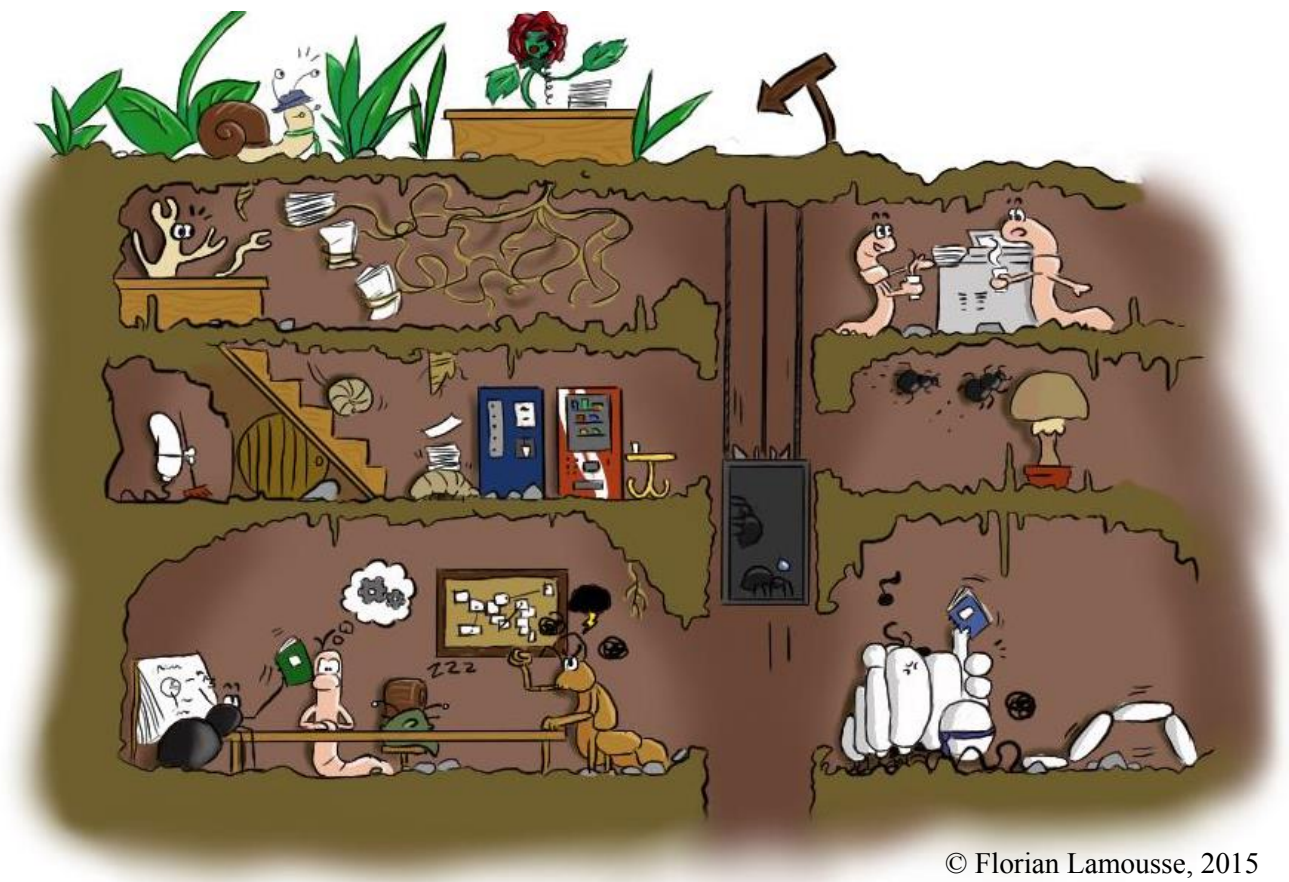
Soutenance publique le 21 mars 2018

Membres du jury :

M. Jérôme CORTET <i>Pr, Université Paul Valéry, CEFÉ Montpellier</i>	Rapporteur
M. Alain BRAUMAN <i>DR, IRD SupAgro, UMR Eco&Sols Montpellier</i>	Rapporteur
M^{me} Aurélie CEBRON <i>CR, CNRS, LIEC, Vandoeuvre-lès Nancy</i>	Examinatrice
M. Thomas LERCH <i>MCf, Université Paris-Est Créteil, IEES Paris</i>	Examineur
M^{me} Corinne LEYVAL <i>DR, CNRS, LIEC, Vandoeuvre-lès-Nancy</i>	Directrice de thèse
M^{me} Apolline AUCLERC <i>MCf, Université de Lorraine, LSE, Vandoeuvre-lès-Nancy</i>	Co-directrice de thèse



Le sol, une véritable entreprise...



Merci à **Florian Lamousse** pour l'illustration que tu as réalisé pour le concours « ma thèse en 180s ».

REMERCIEMENTS

Durant ces 3 ans de thèse, de nombreuses personnes sont intervenues, de près ou de loin, directement ou indirectement, de façon brève ou de plus longue durée, dans ces travaux de thèse et je tiens à les remercier sincèrement. Toutefois, faire une liste exhaustive me serait difficile car j'ai eu l'occasion de côtoyer durant plus de 3 ans de très nombreuses personnes. De plus, des personnes hors milieu professionnel m'ont apporté leur aide et je souhaite faire de mon mieux pour les remercier ici. Je tiens à préciser que l'ordre d'apparition des noms est arbitraire... ou presque.

- Remerciements professionnels -

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury, c'est-à-dire **Jérôme Cortet**, **Alain Brauman**, **Aurélie Cébron** et **Thomas Lerch**, d'avoir accepté de juger mes travaux. Je remercie ensuite la région Lorraine et le FEDER (Fonds européen de développement régional) pour avoir financé mes travaux de thèse durant 3 ans et 3 mois. Je remercie également le projet LORVER pour avoir rendu possible ce sujet de thèse. Je remercie **Sophie Guimont**, **Marie-Odile Simonnot** et **Lucas Gossiaux** pour la gestion du projet et des plénières. Je tiens à remercier le GISFI (Groupement d'intérêt scientifique sur les friches industrielles) pour le soutien technique au cours de cette thèse, l'accès aux sites de Biotechnosol et d'Homécourt, ainsi que les échanges lors des plénières. Je remercie également Arcelor Mittal Real Estate France, notamment **Patrick Charbonnier**, **Marc-Antoine Seidel** et **Emmanuelle Depré** pour l'accès aux sites de Moyeuve-Petite et de Micheville et pour les échanges scientifiques autour de mes travaux. De même, je remercie **Philippe Goury**, de la société Eurogranulat, et la **marie de Retonfey** pour l'accès au site d'installation de stockage de déchets inertes. Pour finir, je remercie Suez RR IWS Minerals France SITA FD pour les accès au site de sol construit de Jeandelaincourt.

- Remerciements personnels -

Je tiens tout d'abord à remercier ma directrice de thèse, **Corinne Leyval**. Je vous remercie en premier temps pour m'avoir choisi comme doctorant sur ce sujet mêlant deux disciplines, deux laboratoires. Je vous remercie pour l'investissement dont vous avez fait preuve durant ces années de thèse, et ce malgré votre emploi du temps très chargé et les nombreuses tâches qui vous incombent. Vous avez toujours su être disponible lorsque j'en avais besoin. Malgré vos nombreuses responsabilités, vous avez toujours suivi mon travail de près. Je vous remercie particulièrement pour le temps que vous avez consacré dans les corrections du manuscrit, des articles et des présentations.

De plus, je tiens à vous remercier pour la confiance que vous m'avez accordée durant ces années. Avec un sujet de thèse abordant des approches innovantes, mêlant des disciplines différentes avec des concepts et définitions parfois imprécis, je vous remercie d'avoir toujours pris en compte mes idées et d'avoir débattu avec intérêt autour de cela.

De façon plus pragmatique, je vous remercie également pour avoir prolongé mon contrat afin que je puisse terminer ce travail de thèse dans les meilleures conditions. Cela reste vrai pour l'ensemble de cette thèse, où vous vous êtes souciée des conditions dans lesquelles j'ai travaillé.

Je remercie ma co-directrice de thèse, **Apolline Auclerc**. Je te remercie également pour m'avoir choisi comme candidat pour ce sujet de thèse. Nous nous sommes croisés au LIEC à Metz où tu étais en thèse et moi en stage, puis au LSE où tu es arrivée comme Maître de Conférence et moi, stagiaire de nouveau, pour finalement travailler ensemble. J'écris « finalement » mais ce n'est sûrement pas la fin, bien au contraire.

Je te remercie pour l'investissement dont tu as fait preuve durant ces années. Je t'entends d'ici me dire que « c'est normal, c'est mon rôle », mais je pense que chaque encadrant choisit l'investissement dont il veut faire preuve. Toi et Corinne avez pris du temps pour être présentes, tout en me laissant une très grande liberté dans mes travaux. Avec un emploi du temps chargé comme le tien, je te remercie également du temps que tu as consacré aux corrections, tes remarques et tes conseils sur mes travaux. Merci pour nos nombreux échanges scientifiques et nos discussions autour des traits, de la faune, des concepts écologiques et du monde de la recherche, qui ont jalonné ces années. Apolline, je te remercie également pour avoir pris en compte mes idées sans jamais les contester mais de toujours les discuter. Cela fait écho à un point très important sur lequel je souhaite particulièrement te remercier, c'est de m'avoir considéré comme un collègue avant de me considérer comme un doctorant. En tout cas, j'espère que nos nombreux moments de fous rires, nos discussions (notamment non-scientifiques) et ce manuscrit de thèse comblent les lacunes de ce paragraphe de remerciements.

Je tiens aussi à remercier **Thierry Béguiristain**, qui ne m'a pas encadré administrativement parlant mais qui a suivi de très près mes travaux durant cette thèse. Merci pour les discussions scientifiques et non scientifiques que l'on a pu avoir durant ces années et merci pour ta grande ouverture d'esprit. Je te remercie d'avoir consacré du temps pour m'apprendre les techniques utilisées en microbiologie au sein du LIEC Aiguillettes et de m'avoir accompagné « à la paillasse », mais également d'avoir grandement participé à la construction scientifique de cette thèse et aux corrections du manuscrit.

Thierry, tu es une personne pleine d'entrain, de joie de vivre, de dynamisme et d'idées. J'ai passé de très bons moments en ta présence sur les différents sites, à Jeandelaincourt pour les prélèvements ou avec les étudiants, au festival du film de chercheur, *etc.* Je sais que tu n'attends pas de remerciement particuliers mais, même si ton nom n'apparaît pas administrativement dans l'encadrement de cette thèse, j'espère que les anciens et futurs articles ainsi que les bons moments passés ensemble compensent.

Je remercie les directeurs des deux laboratoires d'accueil au cours de cette thèse, c'est-à-dire **Fabien Thomas** pour le LIEC (et également **Christian Mustin** en tant que directeur du site Aiguillettes) et **Christophe Schwartz** pour le LSE.

Je remercie tous les permanents des deux laboratoires pour avoir participé de près ou de loin à ces travaux de thèse et à mon intégration au sein des laboratoires. Je remercie particulièrement **Aurélié Cébron**, pour m'avoir permis de réaliser le séquençage des champignons sur mes échantillons. Sans toi, il y aurait un chapitre en moins dans ce manuscrit ! Je te remercie également pour m'avoir inclus dans l'organisation des journées « traits microbiens » et pour les échanges que nous avons eu autour de ce sujet. Je remercie notamment **Damien Blaudez**, collègue de bureau durant la quasi-totalité de la thèse, pour les discussions scientifiques et les échanges de données autour de Lorver, mais aussi pour ton aide sur des questions « champignons » que j'ai pu avoir. Je remercie également **Catherine Sirguez** pour avoir réalisé avec Ali les nombreuses analyses physico-chimiques sur ces parcelles. Je remercie de façon générale **Jean-Louis Morel**, **Goeffroy Séré**, **Patrick Billard**, **Noëlle Enjelvin**, **Françoise Watteau**, **Pierre Faure**, **Sophie Leguedois**, **Pierre Leglize**, **Asfaw Zegeye**, **Stéphanie Ouvrard**, **Anne Poszwa**,

Emile Benizri, Coralie Biache, Guillaume Echevarria, Sylvie Dousset, Frédéric Darboux et Thibault Sterckeman.

Un grand merci à **Alain Rakoto**, qui m'a énormément aidé sur le terrain. Tu t'es rendu disponible pour toutes les campagnes de prélèvements réalisées au cours de cette thèse et je t'en remercie beaucoup. Je te remercie notamment pour les prélèvements des collemboles (sachant que le sol était rarement facile pour enfoncer les carottiers), les extractions au Mc Fadyen, et pour avoir transporté de grosses quantités de sols ! Je te remercie également pour toutes les fois où mon ordinateur faisait des siennes et pour répondre à mes « tickets » ☺. Je remercie également **Romain Goudon** pour le passage des échantillons à l'ICP et l'assurance qualité de ces résultats, avec **Adeline Bouchard**. Je remercie également **Jean-Claude Beguin** pour m'avoir aidé lors de la grosse campagne de prélèvement du printemps 2015 et **Stéphane Colin** pour avoir conçu les quadrats. Merci également à **Lucas Charrois** pour la sécurité du laboratoire. Je remercie particulièrement **Rémi Baldo, Mélanie Malacarne, Yannick Cazes et Adeline Combat**, qui sont ou étaient au GISFI, pour vos soutiens techniques très précieux sur site ou sur le GISFI.

Coté LIEC, je remercie particulièrement **Christine Friry** pour m'avoir aidé (c'est même plus que de l'aide) afin de récupérer les 12800 spores de champignons !!! Merci pour m'avoir aidé à monter les dispositifs expérimentaux, pour leur entretien pendant les vacances (avec l'envoi des photos des collemboles frétilants par SMS ☺) et le démontage à la fin. Je remercie également **David Billet** pour les analyses physico-chimiques réalisées au LIEC.

Un remerciement spécial à **Cécile Lorentz**, notre « deuxième maman » à nous, les doctorants, pour ton IMMENSE professionnalisme comme secrétaire du site Aiguillettes. Tu es d'une efficacité redoutable et tu n'imagines pas à quel point tu facilites le travail de tes collègues. Merci pour m'avoir accompagné administrativement durant ces 3 années ☺.

Je remercie les 'plus ou moins' récents docteurs que j'ai pu rencontrer durant ma thèse et également mon master. Ainsi, je remercie **Charlotte Berthelot**, collègue de bureau durant la quasi-totalité de la thèse, collègue Lorver mais surtout amie. Merci pour ton professionnalisme et ta motivation tant au niveau du labo que dans les organisations des WE Vosges, des cadeaux de thèses, des sorties *etc.* Tu me diras un jour ton secret pour avoir autant d'énergie... les champignons doivent y être pour quelque chose ☺. Je remercie **Sophie Joimel** pour avoir, avec Apolline, transmis ton savoir sur l'identification des collemboles et pour les très bonnes sorties que l'on a pu passer et que l'on passera encore ensemble ... car la faune rassemble les gens ^^ . Je remercie également **Amélia Bourceret**, pour ton dynamisme, ta joie de vivre et d'être toujours aussi attentionnée. Tu es une fille formidable, ne change rien (surtout en karaoré ! ☺). Je remercie **Frédéric Rees**, « l'expert » biochar, le monteur du projet Lorver, pour sa bonne humeur, son (gros) grain de folie. Merci surtout pour nous avoir très peu parlé de biochar durant toutes tes années au LSE ... ☺ Je remercie **Robin Dagois** pour sa grande gentillesse, sa générosité et son gros cœur ^^ . Merci **Ali Kanso** pour ton énorme travail au sein du LSE qui m'a permis de collecter encore plus de données pour cette thèse ! Je remercie également **Marie Rue**, collègue de bureau durant plusieurs mois, pour ta personnalité colorée et surtout pour ton authenticité. Merci à **Ramez Saad**, collègue de bureau durant plusieurs mois, pour ta grande gentillesse et pour nous avoir apporté un peu de Liban au labo. Je remercie **Johanne Cenerazzo** pour ton grain de folie, ta grande personnalité et ton altruisme. Tu es une personne formidable et je te souhaite une très bonne vie au Canada. J'espère que l'on pourra de nouveau danser sur « Thinking out loud » d'Ed Sheeran ☺. Je remercie également **Joan Dupuy**, mon encadrante de stage de master 2 pour m'avoir appris de nombreuses choses durant cette période, notamment le fonctionnement de l'ASE, ce qui m'a servi en thèse ^^ . Je remercie **Dimitri**

Ubersfeld, collègue de bureau durant 2-3 mois en début de thèse, pour ta grande sympathie et ton humour exceptionnel ! Un remerciement spécial pour **Fadi Hajj**, un très jeune docteur, parti beaucoup trop tôt. Merci pour ta grande gentillesse, ta sincérité et ton professionnalisme. Je pense sincèrement avoir eu la chance de te connaître... malheureusement, d'autre ne l'auront pas.

Je remercie des amis du labo, notamment certains non-permanents. Un grand merci au « triopikeur », formé des sous-unités **Anne Blanchart** (Anoutie), **Clémentine Lapie** (Clapie) et **Séverine Lopez** (Vrinou). Merci à vous d'être aussi géniales, d'être pleines d'entrain et de motivation. Je vous remercie pour les fous rires que j'ai pu avoir avec vous. Merci Clémentine pour ta gentillesse, ton altruisme et pour avoir fait le taxi régulièrement ^^ . Merci Séverine pour ton grain de folie et ton professionnalisme. Merci Anne d'avoir une personnalité débordante et m'avoir beaucoup fait rire, tout en étant sérieuse au travail. Merci à **Romain Présent**, pour ton humour, ta personnalité et les moments que nous avons passés à nous plaindre ^^ . Merci à **Gabin Colombini** pour supporter le triopikeur ☺ et pour avoir pris la relève de la « collembola dream-team » du LSE. Merci à **Céline Gaullier** pour ton incroyable joie de vivre et ton rire qui traverse tous les murs existants ! Merci à **Nicolas Grosjean**, le Robert Pattinson des Vosges et collègue végétarien, pour être ce mélange incroyable de professionnalisme et de bêtise(s). Merci à **Florian Lemmel** pour m'avoir accompagné dans la préparation des échantillons pour le séquençage des champignons et pour m'avoir posé des questions stats intéressantes ☺. Merci à **Kevin Billaudel** pour ta grande sympathie et ta bonne humeur... même si parfois « ce n'est pas fou » !

Je remercie les trois stagiaires que j'ai pu encadrer durant ma thèse. Tout d'abord, je remercie **Audrey Spataro** pour ton investissement exemplaire durant ton stage et ta bonne humeur. Tu as su parfaitement t'approprier les expériences et écouter les remarques que je t'ai faites. Je remercie ensuite **Vivien Lafosse**, pour ton implication dans le stage malgré un « background » très éloigné de la biologie. Merci pour ton aide dans le comptage et le tri des bestioles ☺. Pour finir, je remercie **Matthieu Justine**, pour ton aide sur l'entretien des mésocosmes et le tri de la macrofaune. Même si ton séjour fût court, ton aide fût précieuse.

Je tiens à remercier une personne en particulier, **Kévin Feeser**, pour tellement de choses que cela pourrait probablement faire l'objet d'une thèse ! Merci tout d'abord pour m'avoir libéré l'esprit lorsque le travail devenait lourd. Il est évident que les nombreuses escapades et moments de repos avec toi m'ont permis de prendre du recul sur la thèse et sur ce manuscrit. Merci d'être quelqu'un d'attentionné, de motivant et sur qui compter. Tu es quelqu'un de très ambitieux, ce qui m'a donné confiance en moi au niveau personnel, et par conséquent au niveau professionnel. Merci pour tous les moments passés avec toi et surtout pour les moments que nous allons passer.

Je remercie également différents amis « hors labo ». Merci à **Rémy Maldonado** pour « tenir le foyer en buvant une coupe de champagne », à **Lucas Jantzen**, cet énergumène « venu de la meeeeeer ! » et à **Eugénie Rivierre**, la « mother of dragons ». Merci à mes amis de longues dates, du sud de la France, **Loïc Coud-Cher**, **Arthur Fauconnet** et **Steevens Eberhart**, pour votre amitié malgré la distance et mes absences. Je remercie également deux amies de fac, avec qui j'ai passé de très bons moments en licence et en master. Merci **Clémence Riva** et **Adeline Janus** pour m'avoir supporté durant 3 ans !

Finalement, je remercie ma famille. Merci à mes frères, **Guilherme** et **Jocelyn Vincent**, de m'avoir supporté pendant moult années ☺ Merci d'avoir joué vos rôles de grands frères, même avec la distance. Je remercie également vos compagnes, **Candice Margotton** et **Mélody Laurent**. Vous être des femmes formidables que je suis fier d'avoir au sein de ma famille. Un grand merci à ma sœur, **Mariannick Jorand**, qui a toujours été là pour moi, peu importe la situation, peu importe le moment, et peu importe la distance. Tu sais que l'inverse est aussi le cas ☺. J'ai beaucoup de choses sur le cœur mais je vais devoir me limiter dans ces remerciements... Et pour finir, je remercie ma maman, **Magali Secher**. Je vais devoir également être succinct dans ces remerciements car, comme tu le sais bien, j'aurai énormément de choses à dire. Merci d'avoir TOUT FAIT pour me permettre de réaliser des études. J'en profite pour remercier également mon grand-père, **Yves Deniaud-Jaffrot**, et mon beau-père, **Fernand Secher**, pour avoir fortement contribué à rendre possible ces études. Maman, je te remercie pour m'avoir transmis ton amour de la nature. Il est évident que je n'aurai jamais écrit cette thèse si tu ne m'avais pas montré les champignons dans la forêt, les plantes dans les livres et les étoiles dans le ciel. Tu es une femme d'une grande intelligence que j'ai toujours admirée, tant pour ta culture et ta tolérance que pour ta capacité à supporter les épreuves. Merci d'être une femme qui donne énormément sans attendre quoique ce soit en retour. Alors, avec tout ce que tu m'as donné, je serai honoré de te donner mon diplôme.

COMMUNICATIONS DES TRAVAUX

Publication :

VINCENT Quentin, Apolline AUCLERC, Thierry BEGUIRISTAIN and Corinne LEYVAL, 2018. Assessment of derelict soil quality: abiotic, biotic and functional approaches. Science of the Total Environment, 613–614, 990–1002.

Présentations orales :

VINCENT Quentin, AUCLERC Apolline, BEGUIRISTAIN Thierry and LEYVAL Corinne, 2016. Caractérisation taxonomique et fonctionnelle des interactions biotiques et des relations biotique-abiotique de six sols fortement anthropisés. 13ème Journées sur l'Etude des sols, 5-8 Juillet, Louvain-la-Neuve, Belgique

VINCENT Quentin, Apolline AUCLERC, Thierry BEGUIRISTAIN et Corinne LEYVAL, 2016. Caractérisation taxonomique et fonctionnelle de la biodiversité et étude des relations biotique-abiotique de six anthroposols délaissés. Journées TEBIS (Traits Ecologiques et Biologiques des organismes des sols), 3-5 octobre 2016, Toulouse, France.

VINCENT Quentin, Apolline AUCLERC, Thierry BEGUIRISTAIN and Corinne LEYVAL, 2017. A study of abiotic, biotic and functional parameters of six derelict soils in the north-east of France - towards a potential use of derelict soils as a resource. 14th international Conference AquaConSoil, 26-30 June Lyon, France.

VINCENT Quentin, Apolline AUCLERC, Thierry BEGUIRISTAIN and Corinne LEYVAL, 2017. Abiotic, biotic (microflora, fauna) and functional parameters of derelict soils - towards a potential use of derelict soils as a resource. First International Conference on Microbial Ecotoxicology, ECOTOXICOMIC 2017, 21-24 November, Lyon, France.

Présentation poster :

VINCENT Quentin, AUCLERC Apolline, BEGUIRISTAIN Thierry and LEYVAL Corinne, 2017. A study of abiotic, biotic and functional parameters of six derelict soils in the north-east of France - towards a potential use of derelict soils as a resource. SUITMA9, 22-26 mai 2017, Moscou.

TABLE DES MATIERES

Introduction générale _____ 1

Chapitre 1 : Etat de l'art

I LE SOL ET SA QUALITE _____ 5

I.1 Le sol, ses fonctions et ses services _____ 5

I.2 La qualité des sols _____ 6

II L'ANTHROPISATION DES SOLS _____ 10

II.1 Les sols anthropisés _____ 10

II.2 Les sols fortement anthropisés : problématiques et enjeux _____ 11

II.3 Remédiation et réhabilitation des sols fortement anthropisés _____ 17

II.4 Cas particulier des sols fortement anthropisés : les sols délaissés _____ 20

III LA BIODIVERSITE DES SOLS _____ 25

III.1 Concepts et mesures de la biodiversité _____ 25

III.2 Les micro-organismes et la faune du sol _____ 35

IV LA BIODIVERSITE DANS LES SOLS ANTHROPISES _____ 47

IV.1 Effets de la contamination et des usages des sols sur les bactéries
et les champignons _____ 48

IV.2 Effets des contaminations et des usages des sols sur la mésofaune :
le cas des collemboles _____ 53

IV.3 Effets des contaminants et des usages des sols sur la macrofaune _____ 56

IV.4 Intérêts des approches multi-compartimentales dans l'étude des effets des perturbations
anthropiques _____ 58

V LES INTERACTIONS BIOTIQUES DANS LES SOLS _____ 60

V.1 Généralités et interactions biotiques dans les sols _____ 60

V.2 Effets des interactions microflore-faune du sol sur la biodiversité _____ 60

V.3 Interactions microflore-faune du sol et conséquences sur le fonctionnement végétal _____ 63

VI OBJECTIFS DE LA THESE _____ 68

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

I. MATERIEL _____ 73

I.1. Les sols étudiés _____ 73

I.2. Les organismes employés _____ 84

II. METHODES _____ 88

II.1. Méthodes d'échantillonnage *in situ* _____ 88

II.2. Protocoles des expériences en mésocosmes _____ 92

II.3. Méthodes analytiques _____ 101

Chapitre 3 : Mesure de la qualité des sols délaissés : approches abiotiques, biotiques et fonctionnelles

I. INTRODUCTION	121
II. MATERIALS AND METHODS	124
II.1. Study sites of derelict soils	124
II.2. Sampling method	125
II.3. Abiotic parameters	126
II.4. Biotic parameters	127
II.5. Functional parameters	129
II.6. Statistical analyses	130
III. RESULTS AND DISCUSSION	132
III.1. Abiotic characteristics of the soils	132
III.2. Biological characteristics of the derelict soils	137
III.3. Functional parameters of the derelict soils	139
III.4. Co-variation between abiotic and biotic parameters in the derelict soils	141
III.5. Co-variation between abiotic and functional parameters in the derelict soils.	143
III.6. Biotic interactions in the derelict soils	145
IV. CONCLUSION	145

Chapitre 4 : La structure fonctionnelle des communautés de collemboles et de la macrofaune des sols délaissés dépend des paramètres abiotiques

I. INTRODUCTION	150
II. MATERIALS AND METHODS	152
II.1. Derelict soils and fauna sampling methods	152
II.2. Functional study (trait-based approach) of Collembola and macrofauna communities	154
II.3. Taxonomic and functional diversity indices of Collembola and macrofauna communities	156
II.4. Statistical and multivariate analyses	156
III. RESULTS	157
III.1. Collembola communities from all 6 derelict soils	157
III.2. Macrofauna communities in 5 derelict soils	162
IV. DISCUSSION	166
IV.1. Soil (taxonomic and functional) community structure is driven by derelict soil fertility and contamination.	166
IV.2. Trait-based functional soil community structures as an approach to differentiate derelict soils	169
V. CONCLUSION	172

Chapitre 5 : Etude de la structure des communautés fongiques dans six sols délaissés par une approche taxonomique et une approche « trait »

I. INTRODUCTION	178
II. MATERIEL ET METHODES	180
II.1. Les sols délaissés étudiés	180
II.2. Méthode d'échantillonnage du sol et des racines	181
II.4. Caractérisation de la structure fonctionnelle des communautés fongiques du sol et des racines	182
II.5. Statistiques et analyses multivariées	184
III. RESULTATS	185
III.1. Diversité taxonomique des communautés fongiques du sol et des racines des sols délaissés	185
III.2. Diversité des communautés fongiques du sol et des racines selon l'approche trait	188
III.3. Analyses RLQ des communautés fongiques du sol et des racines	190
IV. DISCUSSION	192
IV.1. Structure taxonomique des communautés fongiques	192
IV.2. Structure des communautés fongiques selon le trait « mode trophique »	196
IV.4. Le mode trophique des champignons du sol est lié à la fertilité des sols délaissés	199
IV.3. La base de données FUNGuild : une approche des traits fongiques à développer	200
V. CONCLUSION	201

Chapitre 6 : Suivi temporel des paramètres abiotiques et biotiques dans quatre modalités d'un Technosol construit

I. INTRODUCTION	206
II. MATERIEL ET METHODES	208
II.1. Les quatre modalités du Technosol construit	208
II.2. Plante et inoculum fongique	210
II.3. Méthodes d'échantillonnage	210
II.4. Mesures des paramètres abiotiques et biotiques	211
II.5. Analyses statistiques et multivariées	212
III. RESULTATS ET DISCUSSION	214
III.1. Paramètres abiotiques des terres des différentes modalités du Technosol construit	214
III.2. Paramètres biotiques des terres dans les différentes modalités du Technosol	222
III.3. Relations entre les paramètres abiotiques et biotiques dans les quatre modalités du Technosol à T3	227
III.4. Capacité du Technosol à être un agrosystème	230
VII. CONCLUSION	231

Chapitre 7 : Interactions champignon mycorhizien à arbuscules - collembole dans deux sols délaissés plantés de ray-grass

I. INTRODUCTION	235
II. MATERIALS AND METHODS	238
II.1. Experimental setup	238
II.2. Experimental designs and greenhouse conditions	239
II.3. Sampling and analytical procedures	240
II.4. Statistical analysis	241
IV. RESULTS	242
IV.1. Experiment 1: Effects of soil volume and Collembola presence on mycorrhizal ryegrass growth and mineral element uptake	242
IV.2. Experiment 2: Effect of AMF and/or Collembola inoculation on ryegrass growth and mineral elements uptake in two derelict soils	246
V. DISCUSSION	250
V.1. Interactions between AMF-Collembola-ryegrass depend on 'rootable' soil volume.	250
V.2. The inoculation of Collembola increased AMF colonisation in the settling pond soil.	252
V.3. Comparison between both experiments	253
VI. CONCLUSION	253
 Discussion générale	 255
I- Les sols délaissés industriels sont-ils particuliers ?	256
II- L'étude de plusieurs groupes biotiques présente des avantages, mais de nombreux verrous subsistent.	261
 Conclusion générale	 265
Références bibliographiques	268
Annexes	293

LISTE DES TABLEAUX ET DES FIGURES

TABLEAUX :

Chapitre 1

Tableau 1.1 : Définitions et exemples de services écosystémiques fournis par les sols (Walter <i>et al.</i> , 2014).....	6
Tableau 1.2 : Valeurs extraites de la norme française relative aux teneurs maximales en ETM dans les sols (en mg.kg ⁻¹ de sol sec) issues de l'arrêté du 2 février 1998.	16
Tableau 1.3 : Exemples de composition de sols industriels pollués par des HAP (Crone, 2001).	16
Tableau 1.4 : Proposition de catégories des SUTMA basée selon les services écosystémiques qu'ils assurent (Morel <i>et al.</i> , 2014b).	17
Tableau 1.5 : Principales appellations des sols délaissés retrouvées dans la littérature.	21
Tableau 1.6 : Principales contraintes dans les sols délaissés (Wong et Bradshaw, 2002).	24
Tableau 1.7 : Interactions biotiques (d'après Karimi <i>et al.</i> , 2017) et exemples dans le milieu terrestre.	60

Chapitre 2

Tableau 2.1 : Sols échantillonnés et nombre d'échantillons en fonctions des dates étudiées au cours de la thèse.	88
Tableau 2.2 : Traits de vie étudiés et attributs correspondant pour les communautés de collembole et de la macrofaune.	112
Tableau 2.3 : Tableau général synthétisant les différents paramètres mesurés dans la thèse.	114

Chapitre 3

Table 3.1 : Localization, physico-chemical and biological characteristics of the six derelict soils.	134
--	-----

Chapitre 4

Table 4.1 : Abiotic parameters of the six derelict soils.	153
Table 4.2 : Traits/Ecological preferences of the Collembola and macrofauna sampled in the 6 derelict soils.	154
Table 4.3 : Taxonomic and functional indices of Collembola communities in the six derelict soils (A to F).	157
Table 4.4 : Taxonomic and functional indices of macrofauna communities in 5 derelict soils.	163
Appendix 4.A : List of Collembola species with the codes and complete names.	173
Appendix 4.B : List of macrofauna taxa with the codes and complete names.	174

Chapitre 5

Tableau 5.1 : Attributs du trait « mode trophique »	183
--	-----

Tableau 5.2 : Indices de diversité taxonomique des communautés fongiques issues des échantillons de sols et de racines dans les six sols délaissés.	186
---	-----

Tableau 5.3 : Indices de diversité basée sur le trait « mode trophique » des communautés fongiques issues des échantillons de sol et de racines dans les six sols délaissés.	189
--	-----

Chapitre 6

Tableau 6.1 : Paramètres abiotiques (mesurés par Kanso (2016)) et biotiques des quatre modalités de Technosol (TB , TB2NM, TB2M et TB3M) mesurés à quatre dates de prélèvements (T0, T1, T2 et T3), et résultats des tests statistiques (P-value).....	215
---	-----

Chapitre 7

Table 7.1 : Localization, physico-chemical characteristics and pollutant concentrations of the two soils from derelict sites.	238
---	-----

Table 7.2 : Major and trace element concentrations in ryegrass shoots and roots at the end of experiment 1 in 1L or 3L pots filled with coking plant soil, without Collembola (no Coll) or with Collembola during 1 or 1.5 month (Coll. 1 month; Coll. 1.5 months), in experiment 1	244
--	-----

Table 7.3 : Number of Collembola per pot, root mycorrhizal colonization and bacteria and fungi densities in 1L or 3L pots filled with coking plant soil, without Collembola (no coll) or with Collembola during 1 or 1.5 month (Coll. 1 month; Coll. 1.5 months) in experiment 1.....	245
--	-----

Table 7.4 : Major and trace elements in ryegrass shoots and roots in 1L pots filled with coking plant or settling pond soil, with (+AMF) or without (–AMF) AMF and with (+Coll) or without (–Coll) Collembola during 1.5 month, in experiment 2.	248
--	-----

Table 7.5 : Number of Collembola per pot, mycorrhizal infestation and bacteria and fungi densities in 1L size pot full of ionized coking plant soil or settling pond soil, with or without AMF (+AMF and –AMF respectively) and with or without Collembola (+Coll and –Coll respectively) during 1.5 month, in experiment 2.	249
--	-----

FIGURES :

Chapitre 1

Figure 1.1 : Schéma de l'anthropisation des sols (Leyval <i>et al.</i> , 1999).....	11
--	----

Figure 1.2 : Proposition de groupes de SUITMAs selon leur capacité à être support de végétation (Morel <i>et al.</i> , 2014).	14
---	----

Figure 1.3 : Schéma simplifié des évolutions possibles des sols fortement anthropisés donnant naissance à des sols délaissés.	21
---	----

Figure 1.4 : Interprétation schématique de la diversité fonctionnelle à travers deux indices (d'après Villéger, 2008).	24
--	----

Figure 1.5 : Schéma des différents groupes de la biodiversité du sol classés par taille (modifié de Gobat <i>et al.</i> , 2010).	36
Figure 1.6 : Représentation schématique d'une coupe de racine présentant les différentes structure endomycorhiziennes (d'après Fortin <i>et al.</i> , 2016).	41
Figure 1.7 : Densité de la mésofaune selon les principaux groupes, dans des sols bruns non cultivés des régions tempérées (Bachelier, 1971).	45
Figure 1.8 : Analyse bibliométrique de la littérature de janvier 1950 à mai 2017 comprenant les termes « bacteria », « fungi », « collembola » ou « macrofauna » suivi de « soil metal » ou de « soil PAH » dans Web of Science (WoS).	48
Figure 1.9 : Biomasse microbienne moyenne des sols en fonction du type d'usage en France métropolitaine.	53
Figure 1.10 : Schéma conceptuel des différents objectifs de la thèse.	71

Chapitre 2

Figure 2.1 : Cartographie des différents sites étudiés.	73
Figure 2.2 : [En haut] Photographies aériennes des parcelles expérimentales de Jeandelaincourt lors de la construction en 2013, en 2015 et en 2017. [En bas] Photographie panoramique du site en automne 2014.	74
Figure 2.3 : Schéma du profil de reconstruction de sol sur les parcelles de Jeandelaincourt.	75
Figure 2.4 : Plan des parcelles et des points d'échantillonnages sur chaque modalité du Technosol de Jeandelaincourt.	76
Figure 2.5 : Parcelle « TB Peuplier » en automne 2014, printemps 2015, automne 2015 et été 2016.	77
Figure 2.6 : Photographies du site et du sol de « Biotechnosol ».	79
Figure 2.7 : Photographies du site et du sol de « Retonfey ».	80
Figure 2.8 : Photographies du site et du sol de « Homécourt.	81
Figure 2.9 : Photographies du site et du sol de « Moyeuve-Petite ».	82
Figure 2.10 : Photographies du site et du sol de « Micheville ».	83
Figure 2.11 : Photographie à la loupe binoculaire (×10) de <i>Sinella caeca</i> au-dessus d'une spore de champignon mycorhizien <i>Funneliformis mosseae</i> BEG69.	84
Figure 2.12 : Photographie au microscope optique de [A] spores de <i>F. mosseae</i> BEG69, [B] d'hyphes de <i>F. mosseae</i> BEG69 à l'intérieur d'une racine et [C] un arbuscule de <i>F. mosseae</i> BEG69.	86
Figure 2.13 : Photographie d'un plant de Raygrass (à gauche) et des parties foliaires, des fleurs et des graines (à droite).	87
Figure 2.14 : Photographie d'un dispositif d'échantillonnage de la macrofaune épiquée par pot piège.	89
Figure 2.15 : [A gauche] photographie (site de Homécourt en exemple) et [à droite] schéma vue du dessus du transect d'échantillonnage des sols de Biotechnosol, Retonfey, Homécourt, Moyeuve-Petite et Micheville.	90
Figure 2.16 : Photographie (à gauche) et schéma (à droite) d'un point de prélèvement.	91
Figure 2.17 : Plan de l'expérience n°1 sur les interactions Plante-Mycorhizes-Collemboles en fonction du volume de sol et de la durée d'interaction.	93

Figure 2.18 : Photographie des 2 dispositifs (3L et de 1L) après 2 mois de culture.	94
Figure 2.19 : Photographie des dispositifs de 1 et 3L pour l'expérience n°1 dans la chambre de culture.	94
Figure 2.20 : Plan de l'expérience n°2 sur l'interaction Plante-Mycorhize-Collemboles dans deux sols délaissés.	97
Figure 2.21 : Photographie des dispositifs de 1L pour l'expérience n°2 dans la chambre de culture.	98
Figure 2.22 : Schéma des différents paramètres mesurés dans les deux expériences en mésocosmes.	100
Figure 2.23 : Principe de la stratégie d'indexation double.	105
Figure 2.24 : Photographies du dispositif MicroResp™.	109
Figure 2.25 : Illustration du calcul du <i>Community Weighted Mean</i> (CWM).	111

Chapitre 3

Figure 3.1 : Localization of the sites where the six derelict soils were sampled.	124
Figure 3.2 : Scheme of the different sampling quadrats.	126
Figure 3.3 : Co-inertia analysis of abiotic and biotic parameters of the six derelict soil samples.	141
Figure 3.4 : Co-inertia analysis of abiotic and functional parameters of the six derelict soils (29 samples).	143

Chapitre 4

Figure 4.1 : Community weighted mean (CWM) values of Collembola communities sampled in each derelict soil (A to F), calculated for the following traits: number of ocelli, body length, vertical distribution, presence of furca, body shape, presence of PAO, pigmentation, reproduction type, habitat preference, and micro-habitat preference.	159
Figure 4.2 : Projection of the coordinates of each soil replicate on the first two main components RLQ1 and RLQ2 (A), mapping of Collembola species density coordinates (B), and plot of attributes of each trait linked to abiotic soil parameters (C).	161
Figure 4.3 : Community weighted mean (CWM) values of macrofauna communities sampled in each derelict soil (A to E), calculated for the following traits: body length, diet type, integument type, mouth-part type, habitat preference, and micro-habitat preference.	163
Figure 4.4 : Projection of the coordinates of each soil replicate on the first two main components RLQ1 and RLQ2 (A), mapping of macrofauna taxon density coordinates (B), and plot of attributes of each trait linked to abiotic soil parameters (C).	163

Chapitre 5

Figure 5.1 : Courbes de raréfaction moyennes et indices Chao1 moyens pour les six sols délaissés étudiés dans les échantillons de sol et de racines.	185
Figure 5.2 : Moyenne des abondances relatives des différentes familles fongiques mesurées dans les 6 sols délaissés.	187
Figure 5.3 : CWM des différents attributs du trait « mode trophique » des champignons identifiés dans 6 sols délaissés.	190

Figure 5.4 : Analyse RLQ des communautés fongiques issues des échantillons de sols (A : coordonnées des points d'échantillonnage ; B : représentation des variables abiotiques et des attributs du mode trophique).....	191
---	-----

Chapitre 6

Figure 6.1 : Schéma du profil du Technosol construit selon les quatre modalités.....	209
Figure 6.2 : Courbes de réponse principale de l'analyse PRC des quatre modalités de Technosol selon les paramètres abiotiques.	220
Figure 6.3 : Courbes de réponse principale de l'analyse PRC des quatre modalités de Technosol selon les paramètres biotiques.....	227
Figure 6.4 : ACC des seize points de prélèvements sur les quatre modalités de Technosols (TB, TB2NM, TB2M et TB3M avec n=4) selon les paramètres biotiques contraint par les paramètres abiotiques....	229

Chapitre 7

Figure 7.1 : Shoot (top graph, in green) and root (down graph, in brown) biomass of mycorrhizal ryegrass in 1L or 3L pots filled with coking plant soil, without Collembola (No collembola) or with Collembola during 1 (Collembola 1 month) or 1.5 month (Collembola 1.5 month) in experiment 1.....	243
Figure 7.2 : Logarithmic relationship between mycorrhizal colonization and ryegrass root density in the coking plant soil, harvested after 2 month of crop growth in experiment 1.....	246
Figure 7.3 : Shoot (top graph, in green) and root (down graph, in brown) biomass of ryegrass in 1L pots filled with coking plant or settling pond soil, with (+AMF) or without (-AMF) AMF and with (+Coll) or without (-Coll) Collembola during 1.5 month. Mean±SD, n=5 in experiment 2.....	247

SIGLES ET ACRONYMES

ACC : Analyse canonique des correspondances
ADEME : Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie
ADN : Acide désoxyribonucléique
AMC : Average Mineralization Capacity
AMF : Arbuscular Mycorrhizal Fungi
ANOVA : Analysis of variance
ASE : Accelerated Solvent Extractor
BEG : Banque européenne des Glomales
BETSI: Biological and Ecological Traits of Soil Invertebrates
BTP : Bâtiment et travaux publics
CCA (Canonical Correspondence Analysis)
CEC : Capacité d'échange cationique / Cationic Exchange Capacity
CGDD : Commissariat général au développement durable
CLPP : Community Level Physiological Profiles
CORINE : Coordinateur de l'information sur l'environnement, commission chargée de l'environnement
CRE : Capacité de rétention en eau
CTA : Centre des technologies agronomiques
CWM : Community Weighted Mean
DSE: Dark Septate Endophyte
DGGE : Denaturing Gradient Gel Electrophoresis.
dNTP : Nucléoside Triphosphate
DREAL : Direction régional de l'environnement, de l'aménagement et du logement
DTPA: Diethylenetriaminepentaacetic acid
EPFL : Etablissement public foncier de Lorraine
ERDF : European Regional Development Fund
ETM : Elements traces métalliques
FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations
FD : Functional diversity
FDA : Fluorescein diacetate
FEDER : Fonds européen de développement régional
FEve : Functional evenness
Fric : Functional richness
GISFI : Groupement d'intérêt scientifique sur les friches industrielles
GISQ : General Indicator of Soil Quality
GN : Gram négatif
GP : Gram positif
HAP : Hydrocarbures aromatiques polycycliques
HPLC : High-Pressure Liquid Chromatography
HSD : Honest Significant Difference

IBQS : Indice biologique de la qualité des sols
ICPE : Installation classées pour la protection de l'environnement
ICP-OES : Inductively Coupled Plasma avec Optical Emission Spectroscopy)
INRA : Institution national de la recherche agronomique
ISDI : Installation de stockage de déchets inertes
ISO : International Standards Organization
IUSS : International Union of Soil Sciences
LIEC : Laboratoire interdisciplinaire des environnements continentaux
LSE : Laboratoire sols et environnements
m/m : masse/masse
MA (champignons) : (champignons) mycorhizien à arbuscules
MPPC : Morphologique, physiologique, phénologique et comportementale
NF EN : Norme Française et Européenne
OFT : Optimal Foraging Model
OM : Organic Matter
OTU : Operational Taxonomic Unit
PAH : Polycyclic Aromatic Hydrocarbon
PAH-RHD: Polycyclic aromatic hydrocarbon dioxygenase alpha subunit
PAO : Post Antennal Organ
PCA : Principal Component Analysis
PCR : Polymerase Chain Reaction
PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria
POlsen : Phosphore Olsen (par la méthode d')PRC : Profil de réponses cataboliques
PRC : Principal Response Curve
qPCR : Quantitative Polymerase Chain Reaction
RMQS : Réseau de Mesures de la Qualité des Sols
RT-PCR: Real-Time Polymerase Chain Reaction
SAFIR : Sites ateliers français pour l'innovation et la recherche
SUITMA : Soils of Urban, Industrial, Traffic, Mining and military Areas
TB2M : Terre de biopile, boues, mycorhizée
TB2NM : Terre de biopile, boues, non mycorhizée
TB3M : Terre de biopile, boues, biochar, mycorhizée
TB : Terre de biopile
TEve : taxonomic evenness
Tric : taxonomic richness
TSBF : Tropical Soil Biology and Fertility
UICN : International Union for Conservation of Nature
US-EPA : United States Environmental Protection Agency
v/v : volume/volume
WRB : World Reference Base

Introduction générale

Bien qu'il soit considéré comme une ressource non-renouvelable (FAO, 2015), le sol subit de nombreuses dégradations. A cause de la révolution industrielle, qui a commencé vers la fin du 18^{ème} siècle, de nombreux sols fortement anthropisés ont vu le jour. Après la crise industrielle des années 1960, ces sols dégradés se sont retrouvés à l'état de friches. Deux millions et demi de sites potentiellement contaminés ont été récemment dénombrés en Europe, dont 342000 sites ayant une contamination certaine (Panagos *et al.* 2013). En 2017, on dénombre 6619 sites pollués en France dont 1046 dans le Grand Est (BASOL, 2017). La dégradation des sols est souvent synonyme de pollution, et peut conduire une remédiation et une réhabilitation de ces sols, lorsqu'il y a des risques associés. Toutefois, la dégradation des sols n'est pas seulement liée à la contamination. De nombreux sols peuvent être dégradés, sans être fortement contaminés, mais restent sans usages. Par ailleurs, même après remédiation, les sols restent parfois à l'abandon. Ces sols délaissés sont peu ou pas inventoriés, ni caractérisés.

Dans un contexte de raréfaction des sols et de pressions foncières et économiques grandissantes (CAUELC, 2009), la remédiation et la réhabilitation de ces sols fortement anthropisés délaissés est un enjeu de plus en plus fort. Associée à une perte de surfaces des sols arables à l'échelle mondiale (Alexandratos et Bruinsma, 2012), la question de la valorisation des sols fortement anthropisés délaissés pour une production végétale se pose (Broughton, 1985; Wilschut *et al.*, 2013; Lord, 2015). C'est dans cet objectif qu'est né le **projet LORVER**. Ce projet a pour objectif final de créer une filière de production de biomasse végétale à usage industriel à partir de sols et de matériaux délaissés à faible pression foncière (www.lorver.org). Ces travaux de thèse ont été réalisés dans le cadre de ce projet, financé par le FEDER¹ et la région Lorraine.

Avant d'envisager une réutilisation de ces sols, il est primordial de les caractériser. Cette caractérisation doit passer par des études précises des propriétés physico-chimiques, biologiques et fonctionnelles de ces sols délaissés, ainsi que leur dynamique temporelle. De plus, identifier les liens entre les paramètres physico-chimiques, biologiques et fonctionnels est essentiel pour comprendre le fonctionnement de ces sols. Comme les organismes du sol jouent des rôles fondamentaux dans le fonctionnement des écosystèmes (Lavelle et Spain, 2001), l'étude de la biodiversité est devenue un enjeu majeur dans la caractérisation des sols fortement anthropisés (Gardiner *et al.*, 2013; ADEME, 2014; Hodecek *et al.*, 2016). Toutefois, caractériser la biodiversité n'est pas aisée car de nombreux composantes biotiques co-existent et interagissent entre elles dans un même environnement (Jeffery *et al.*, 2010) et elle peut être appréhendée de différentes façons. Ainsi, ce travail de thèse propose d'étudier les paramètres abiotiques, biotiques et fonctionnels de plusieurs groupes d'organismes vivants dans les sols, ainsi que leurs interactions, dans différents sols fortement anthropisés délaissés.

¹ FEDER : Fonds européen de développement régional

Ce manuscrit se compose de sept chapitres. Le 1^{er} chapitre est un état de l'art de la littérature scientifique sur les sols fortement anthropisés et délaissés, la biodiversité des sols et les interactions biotiques. Le 2^{ème} chapitre traite du matériel et des méthodes employés dans ce travail de thèse. Les cinq chapitres suivants portent sur les résultats et leur discussion. Ils sont présentés sous forme d'un recueil d'articles. Le 3^{ème} chapitre concerne une étude *in situ* des paramètres abiotiques, biotiques et fonctionnels de 6 sols fortement anthropisés délaissés. Cet article est paru dans le journal « Science of the Total Environment ». Les 4^{ème} et 5^{ème} chapitres sont une étude des structures des communautés faunistiques et fongiques des sols étudiés dans le chapitre précédent. Le 6^{ème} chapitre concerne l'étude *in situ*, au cours du temps, des paramètres abiotiques et biotiques d'un des sols délaissés précédemment étudiés. Pour finir, le 7^{ème} chapitre traite d'une étude en laboratoire sur les interactions biotiques dans deux sols délaissés précédemment étudiés. Ce manuscrit présente à sa fin une discussion et une conclusion générale. Cette thèse a été réalisé au sein de l'**Université de lorraine** dans le **Laboratoire interdisciplinaire des environnements continentaux** (LIEC UMR 7360 Université de Lorraine-CNRS) et le **Laboratoire sols et environnements** (LSE UMR_1120 Université de Lorraine-INRA). Ce travail a bénéficié d'un soutien du **Groupeement d'intérêt scientifique sur les friches industrielles** (GISFI).

Chapitre 1 :

Etat de l'art

I LE SOL ET SA QUALITE

I.1 Le sol, ses fonctions et ses services

Le sol est « la couche supérieure de la croûte terrestre, transformée par des processus climatiques, physico-chimiques et biologiques, composée de particules minérales, de matière organique, d'eau, d'air et d'organismes vivants, organisée en horizons de sols » (ISO, 2015). Le sol résulte de l'altération des roches mères sous-jacentes et de l'accumulation de la matière organique résultant des activités biologiques (Baize et Jabiol, 2011). Mais le sol est aussi un milieu vivant qui contient une flore, une faune et une microflore particulièrement riche, interagissant entre elles et avec les constituants du sol. Ainsi, la composition d'un sol dépend de nombreux facteurs abiotiques (*e.g.* climat, nature de la roche-mère, physico-chimie du sol) et biotiques (*e.g.* abondances et diversité des communautés floristiques, faunistiques et microbiennes) (Baize et Jabiol, 2011).

Le sol est un compartiment complexe, un carrefour dit « multifonctionnel » (Gobat *et al.*, 2010), en relation avec la lithosphère, l'hydrosphère, l'atmosphère et la biosphère (Girard *et al.*, 2011). Le sol remplit de nombreuses **fonctions écosystémiques**². Bien qu'il en existe de nombreuses définitions, nous considérons qu'une fonction écosystémique (ou fonction écologique) est un processus lié à des flux de matières et d'énergies dans un écosystème (Wallace, 2007). Les fonctions écosystémiques peuvent être chimiques (*e.g.* l'oxydation), physiques (*e.g.* la diffusion) ou encore biologiques (*e.g.* la dénitrification ou la minéralisation) (Dominati *et al.*, 2010). Comme le souligne Wallace (2007), les termes « fonctions écosystémiques » et « processus écosystémiques » sont souvent utilisés comme synonymes ; nous les considérerons également comme tel.

Contrairement à l'eau et à l'air, les sols ne sont pas perçus comme des milieux ambiants ayant des fonctions écosystémiques directement nécessaires à la vie humaine. Ainsi, le concept de « **service écosystémique** » a été élaborée, dans une vision anthropocentrée de la nature, pour reconnaître la contribution des fonctions du sol au bien-être et à l'activité économique humaine (De Groot *et al.*, 2002; Breure *et al.*, 2012; Walter *et al.*, 2014). Popularisés par le *Millenium Ecosystem Assessment* (MEA, 2005), les services écosystémiques représentent « les bienfaits, directs et indirects, que retire l'Homme de la nature ». Plus récemment, les services écosystémiques ont été définis comme « les avantages socio-économique retirés par l'Homme de son utilisation durable des fonctions écologiques des écosystèmes que l'Homme peut éventuellement modifier ou

² Ecosystème : Système formé par un environnement (biotope) et par l'ensemble des espèces (biocénose) qui y vivent, s'y nourrissent et s'y reproduisent (www.larousse.fr).

exploiter en apportant du capital ou du travail » (CGDD, 2015). Dans cette dernière définition, plus précise, il est bien question de l'utilisation des fonctions écosystémiques des sols. Trois groupes de services écosystémiques sont identifiés : (i) les services d'approvisionnement, (ii) les services de régulation et (iii) les services culturels (Tableau 1.1) (De Groot *et al.*, 2002; MEA, 2005; Carpenter *et al.*, 2009; Turbé *et al.*, 2010).

Tableau 1.1 : Définitions et exemples de services écosystémiques fournis par les sols (Walter *et al.*, 2014).

Services écosystémiques	Définition et exemples de services écosystémiques
Services d'approvisionnement	Les services d'approvisionnement regroupent l'ensemble des productions issues des sols. Par exemple, l'approvisionnement de produits destinés à l'alimentation humaine et animale, les bois issus des forêts, les fibres destinées à la production de textiles, les matériaux bruts de support horticole ou de construction et de ressource génétique issue de la biodiversité du sol qui fournit notamment des produits biochimiques et pharmaceutiques.
Services de régulation	Les services de régulation concernent la capacité du sol à réguler aussi bien le climat que la qualité de l'air et des eaux. Par exemple, il permet de lutter contre de nombreuses pollutions, les érosions hydriques et éoliennes, la sécheresse, les inondations, l'effet de serre, les ravageurs de cultures et des pathogènes.
Services de support (ou auto-entretien)	Les services de support regroupent l'ensemble des fonctions nécessaires pour la production des autres services. Ces services peuvent être le cycle de l'eau, le cycle des nutriments, la production primaire et la formation des sols. Elle implique des transformations (à l'échelle de décennies, de siècles, de millénaires) des propriétés physiques, chimiques et biologiques du sol.
Services culturels	Les services culturels apportés par le sol sont liés à la capacité du sol à fournir des matériaux pour la production artistique, à stocker et protéger des données historiques (archéologiques et naturelles) et être source d'inspiration religieuse et artistiques.

Un sol remplit des fonctions et des services écosystémiques différents en fonction de ses propriétés physiques, chimiques et biologiques. Ainsi, pour évaluer la capacité d'un sol à assurer ces fonctions, la « qualité des sols » est un des concepts les plus utilisés.

I.2 La qualité des sols

I.2.1 Définitions et enjeux

La **qualité d'un sol** a été définie par de nombreux auteurs et fait référence à une « aptitude d'un sol à fonctionner au sein et dans les limites des écosystèmes naturels ou aménagés, afin de maintenir la productivité végétale et animale, maintenir ou améliorer la qualité de l'eau et de l'air, et soutenir la santé humaine et les besoins d'habitation » (Doran, 2002; Karlen *et al.*, 2003). Tout d'abord, cette définition montre la prise en compte des interactions de la lithosphère avec les

autres compartiments terrestres (biosphère, atmosphère, hydrosphère). Ensuite, l'évaluation de la qualité des sols repose sur les **usages choisis** pour ce dernier. Déjà, en 1994, la Société américaine des sciences du sol proposait une définition de la qualité des sols comme étant affectée à « une utilisation donnée », reprise également par Sojka et Upchurch (1999). Par conséquent il n'y a pas de critères de qualité universelle pour les sols, mais plutôt des paramètres physico-chimiques, biologiques et de fonctionnement, liés à un contexte pédologique et/ou aux usages donnés aux sols. Jolivet *et al.* (2006) sont même plus directifs en soulignant que « la qualité d'un sol ne peut se définir que par rapport à un usage donné ou par ses fonctions dans l'environnement ».

Une vision plus simplifiée de la qualité des sols peut être considérée, sans rapport direct avec son potentiel usage. En effet, la qualité d'un sol peut être simplement définie comme ses caractéristiques intrinsèques, c'est-à-dire ses paramètres abiotiques, biotiques et fonctionnels. Ainsi, c'est selon ses caractéristiques intrinsèques que l'on va lui attribuer un usage, et non l'inverse. C'est dans cette optique que nous utiliserons le terme de qualité.

Dans tous les cas, l'appréciation de la qualité des sols exige la définition d'indicateurs pertinents et la mise au point de techniques fiables de quantification, et doit intégrer les composantes physiques, chimiques et biologiques du sol (Mausbach et Tugel, 1997).

I.2.2 Les indicateurs physico-chimique de la qualité des sols

La qualité **physique** d'un sol est fortement liée à sa structure, c'est-à-dire à la façon dont les constituants minéraux et organiques sont assemblés. Sa qualité dépend principalement des caractéristiques des pores et des particules solides. Dans le sol, la matière organique est un des principaux liants dans la formation des agrégats (Tisdall et Oades, 1982). C'est dans les différentes catégories de vides ménagés par cet assemblage que l'eau, les solutés et les gaz circulent et que les êtres vivants peuvent se développer. Une déstructuration affecte la pénétration des racines dans le sol (Tremblay-Boeuf, 1995) et également l'installation de la microflore et la faune du sol (Larsen *et al.*, 2004; Beylich *et al.*, 2010; Carson *et al.*, 2010), montrant ainsi que les propriétés physiques d'un sol peuvent avoir des conséquences sur le fonctionnement et les services rendus par un sol.

Pour ce qui est de ses propriétés **chimiques**, le sol est avant tout une source de nutriments indispensables pour les plantes. La présence d'ions en excès peut provoquer des phénomènes de toxicité alors qu'au contraire, un déficit entraîne une diminution de la **fertilité** du sol (Tessier *et al.*, 1996). Les activités humaines ont engendré la présence de contaminants ; par exemple en Eléments traces métalliques (ETM) mais également en molécules organiques comme les

Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) qui impactent le fonctionnement des sols. Ainsi, ces contaminants sont pris en compte dans l'évaluation de la qualité des sols.

Singer et Ewing (2000) proposent une liste des principales propriétés chimiques à intégrer dans l'évaluation de la qualité des sols, telles que la Capacité d'échange cationique (CEC), le pH, la teneur en matières organiques, la concentration et la disponibilité des nutriments ainsi que la concentration et la disponibilité des contaminants.

Même si les indicateurs physico-chimiques sont essentiels pour étudier la qualité d'un sol, les organismes du sol, qui sont acteurs de nombreuses fonctions écosystémiques, peuvent caractériser l'état et le fonctionnement du sol (Bispo *et al.*, 2009; Cluzeau *et al.*, 2012).

I.2.3 Les organismes vivants comme outil de diagnostic de la qualité des sols

De nombreux paramètres biologiques peuvent être utilisés comme outils de diagnostic de la qualité des sols (Stone *et al.*, 2016), devenant ainsi des bio-indicateurs. Les **bio-indicateurs**, ou indicateurs biologiques, peuvent être définis comme « des organismes qui répondent à un stress par leur présence ou leur absence, par les modifications de certaines caractéristiques ou activités particulières, ou par une bioaccumulation de certains contaminants » (Eijsackers, 1983). De ce fait, ils peuvent être des témoins de **perturbations de l'écosystème**. Une perturbation est définie comme « une modification d'un système qui se trouve placé hors de son état normal » (Ponge, 2012). Parmi les indicateurs biologiques, la microflore, la micro-, la méso- et la macrofaune sont souvent employés.

- La composante biotique la plus étudiée est la **microflore** (voir partie III.2.2) (Martinez-Salgado *et al.*, 2010). La biomasse microbienne est un indicateur souvent employé car sensible, notamment aux teneurs en matières organiques pouvant être modifiées lors d'une perturbation (Gros, 2002). Cependant, la biomasse microbienne du sol ne suffit pas et d'autres méthodes plus informatives ont été recherchées pour mieux identifier les perturbations subies par le sol. Ainsi, la biologie moléculaire a permis de développer des indicateurs taxonomiques et fonctionnels plus performants (*e.g.* diversité taxonomique, taxons indicateurs, études des gènes par des approches métagénomiques) (Bouchez *et al.*, 2016). La microflore est également étudiée comme indicateur de la qualité des sols à travers ses activités enzymatiques (Caldwell, 2005), ou sa capacité de minéralisation (Bastida *et al.*, 2008). Plus récemment, les interactions biotiques microbiennes par

l'utilisation des réseaux de co-occurrences³ ont été proposées comme indicateur de la qualité des sols (Karimi *et al.*, 2017).

- La **microfaune** est un compartiment souvent utilisé dans l'évaluation de la qualité des sols, notamment par l'étude des communautés de nématodes. Il est à noter que l'étude des nématodes n'est pas récente et il s'agit même du premier indice biologique de la qualité des sols (Bongers, 1990). Ceci a donc conduit à de nombreux travaux autour de la qualité des sols par l'étude des communautés de nématodes (*e.g.* Abawi et Widmer, 2000; Culman *et al.*, 2010; García-Ruiz *et al.*, 2009; Urzelai *et al.*, 2000).

- C'est ensuite les **micro-arthropodes** qui sont les plus étudiés pour évaluer la qualité des sols. Par exemple, Parisi *et al.* (2005) proposent un indice de Qualité biologique des sols (QBS). Nous pouvons également mentionner l'étude de Socarras (2013) focalisée sur différents usages des sols, tout comme les travaux de Joimel *et al.* (2017), ou encore l'étude de Fountain et Hopkin, (2004) portant sur les micro-arthropodes dans les sols urbains.

- La **macrofaune** est un compartiment encore peu étudié comme indicateur de la qualité des sols, même si son intégration dans les programmes de recherche est en essor. Ruiz *et al.* (2011) proposent un Indice biologique de la qualité des sols (IBQS), basé sur les communautés de macrofaune observées selon différents usages des sols. D'autres études se sont intéressées à ce compartiment pour évaluer la qualité de sols fortement anthropisés, notamment celle des sols urbains (Santorufio *et al.*, 2012) ou celle des sols pollués aux métaux (Nahmani et Rossi, 2003). Enfin, certains travaux combinent des paramètres physico-chimiques avec les communautés de la macrofaune, comme l'ont fait précisément Velasquez *et al.* (2007) avec leur *General Indicator of Soil Quality* (GISQ).

Tout d'abord, l'abondance en organismes vivants renseigne sur la qualité de l'écosystème car elle est indicatrice de la capacité globale d'un écosystème à accueillir un potentiel biotique (Doran et Zeiss, 2000). Ensuite, la diversité taxonomique (voir partie III.1.2.) est également un indicateur de la qualité puisqu'il reflète la capacité de l'écosystème à offrir des habitats et des types de nourritures différents (Bardgett, 2002; Cole *et al.*, 2006). De plus, étudier la composition des communautés (voir partie III.1.2.) permet de déceler la présence de taxons indicateurs de la qualité des sols, car certains taxons sont connus pour être sensibles ou résistants aux perturbations (Havlicek, 2012; Gerlach *et al.*, 2013). Enfin, les fonctions biologiques (voir partie III.1.2.) de ces organismes peuvent être mesurées, ou du moins être estimées.

³ Réseaux de co-occurrences [taxonomique] : Ensemble des liens de co-occurrence (présence en simultané de deux taxa dans le même échantillon spatial ou temporelle) entre les différentes taxa

Afin d'estimer au mieux la qualité des sols pour des usages potentiels, il est nécessaire de prendre en compte les propriétés abiotiques, biotiques et fonctionnelles du sol simultanément. Ainsi, plusieurs programmes de recherches comme le programme « Bioindicateur » de l'Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie (ADEME) ou le Réseau de mesures de la qualité des sols (RMQS) cherchent à identifier des bioindicateurs de la qualité des sols pertinents, pour évaluer et suivre à long terme la qualité des sols de France, et *in fine* de les intégrer dans une analyse globale.

Bien qu'il soit considéré comme une ressource naturelle fragile et non-renouvelable (FAO, 2015), le sol et sa qualité subissent de nombreuses dégradations. Parmi les différents acteurs de la dégradation des sols, figurent les pratiques agricoles et sylvicoles, l'expansion urbaine et périurbaine, ainsi que la croissance industrielle. L'anthropisation des sols est un phénomène mondial qui affecte à la fois les propriétés abiotiques, biotiques et fonctionnelles des sols.

II L'ANTHROPISATION DES SOLS

II.1 Les sols anthropisés

Depuis le 19^{ème} siècle, les activités humaines ont considérablement modifié les équilibres écosystémiques à l'échelle mondiale. Ces impacts sont d'une telle importance qu'une nouvelle ère géologique a été proposée: l'Anthropocène (Crutzen, 2002; Lewis et Maslin, 2015) qui signifie « ère de l'Homme »⁴.

Ainsi, la lithosphère, l'hydrosphère, l'atmosphère et la biosphère ont subi des modifications dues aux activités humaines. Le sol étant un carrefour multifonctionnel, ce compartiment environnemental a également subi les effets de l'anthropisation. Ainsi, les **sols anthropisés** sont définis comme des sols ayant subi une « modification partielle ou totale sous l'action humaine » (Mathieu et Lozet, 2011). L'anthropisation s'explique par des modifications diverses du sol, pouvant aller d'une simple mise en culture jusqu'à la reconstitution de sols à partir de matériaux artificiels. Par exemple, le labour, les amendements, les apports de matériaux, l'arasement sont des actions humaines transformant un sol « naturel » en un sol anthropisé (Figure 1.1). L'anthropisation étant liée à l'usage du sol (Brown et Duh, 2004; Cihlar et Jansen, 2001), de nombreux sols sont donc anthropisés : les sols de routes, les sols industriels, urbains (incluant les

⁴ Ce passage à cette nouvelle ère reflète surtout un symbole dans la société car la notion de nouvelle ère géologique suscite de nombreux débats dans la communauté scientifique.

espaces verts ou les sols scellés pour la construction), agricoles, prairiaux, forestiers (lorsqu'ils sont gérés) *etc.* (Laurent, 2012). Une comparaison entre sols naturels, cultivés, urbains et industriels montre qu'il n'existe pas de limites nettes entre un sol « naturel » et un sol anthropisé. Il s'agirait plutôt d'une anthropisation croissante et progressive, des sols développés sous végétation naturelle aux sols de milieux industriels et urbains.

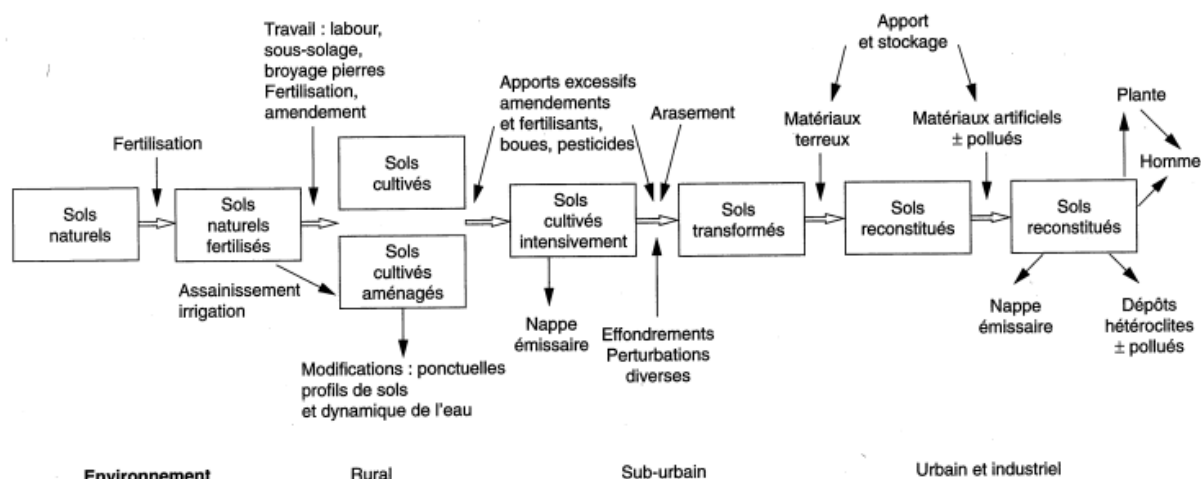


Figure 1.1 : Schéma de l'anthropisation des sols (Leyval *et al.*, 1999).

A partir d'un certain degré d'anthropisation, les processus pédogénétiques originels ne sont plus reconnaissables sur les profils, et les sols présentent alors des caractéristiques pédologiques spécifiques. C'est le cas des sols fortement anthropisés.

II.2 Les sols fortement anthropisés : problématiques et enjeux

Un **sol fortement anthropisé** est un sol dont les propriétés et la pédogénèse sont dominées par leur origine anthropique (Girard *et al.*, 2011). Une des principales activités humaines à l'origine de ces sols fortement anthropisés est l'**industrialisation**.

La révolution industrielle, qui a commencé vers la fin du 18^{ème} siècle, peut être définie comme le passage d'une société à dominante agricole à une société tournée vers l'industrie. Elle se caractérise par des activités tournées vers l'extraction et l'exploitation massives de différents matériaux tels que le charbon, le pétrole et le minerai. Ainsi, cette révolution industrielle et le déclin de nombreuses activités industrielles (*e.g.* sidérurgique) à la fin du siècle passé, ont largement affecté le territoire des régions à fort passé industriel, et engendré d'importantes surfaces contaminées.

Les sols fortement anthropisés sont de plus en plus nombreux et cette artificialisation se fait surtout au détriment des surfaces agricoles. Par exemple, en France, entre 2006 et 2012, comme sur la période précédente, plus de 87% des territoires nouvellement artificialisés sont prélevés sur des territoires agricoles, le reste étant prélevé sur les forêts et les milieux semi-naturels (CGDD, 2015).

Les sols fortement anthropisés, liés à l'industrialisation, possèdent des caractéristiques physico-chimiques particulières et des caractéristiques pédologiques différentes de celles des sols « naturels » (*e.g.* contamination et appauvrissement en cations majeurs, apports de matériaux exogènes). C'est la raison pour laquelle il a été nécessaire de créer des classes spécifiques, basées sur des critères pédologiques, pour ce type de sols et de les ajouter dans les classifications nationales et internationales.

II.2.1 Définitions et classifications des sols fortement anthropisés

Les sols fortement anthropisés peuvent être qualifiés d'**Anthroposols** selon la classification française (Baize et Girard, 2008) ou de **Technosols** selon le *World Reference Base* (WRB) (Rossiter, 2007; Lehmann, 2014).

- **Les Anthroposols**

D'après le Référentiel pédologique de l'Association française pour l'étude du sol (Baize et Girard, 2008), on parle d'Anthroposols lorsque l'Homme a une action prédominante sur l'origine des matériaux constitutifs d'un sol, sur ses propriétés, son comportement et son fonctionnement. Les Anthroposols sont ainsi considérablement modifiés, transformés, fabriqués, reconstitués, ou construits par l'Homme sur au moins 50 cm d'épaisseur (Baize et Girard, 2008). Il existe de grandes variations entre ces Anthroposols, et plusieurs types ont été définis :

- « Les **Anthroposols transformés** sont issus de modifications anthropiques des sols réalisées en zones rurales pour améliorer la fertilité des sols et permettre une production d'aliments. Ce sont généralement des modifications anciennes ; rizières, terrassettes, oasis, *etc.* » (Baize et Girard, 2008).

-« Les **Anthroposols artificiels** résultent entièrement d'apports par l'Homme de matériaux variés. Ils concernent plus les lieux où se sont développées les activités humaines telles que l'urbanisation, l'industrie, les mines, l'artisanat, la voirie. Dans ces sols, l'Homme est responsable de la mise en place d'un matériau anthropique (déblais de mines ou de carrières, déchets domestiques, boues résiduaires, scories, gravats, décombres, *etc.*) à partir duquel se développe l'Anthroposol. Ces matériaux, considérés comme des déchets ou des décombres, se sont accumulés sur place ou ont été apportés » (Baize et Girard, 2008).

-« Les **Anthroposols reconstitués et construits** sont issus des opérations de « génie pédologique ». Ils sont issus d'actes volontaires de fabrication d'un « sol » avec des objectifs précis, en particulier pour obtenir un milieu aussi fertile que possible dans le cadre d'opération de végétalisation. L'existence des Anthroposols reconstitués résulte de l'activité humaine en milieu urbain et péri-urbain, par l'utilisation de matériaux pédologiques transportés, remaniés, puis mis en place dans les jardins, parcs et espaces verts pour les plantations de végétaux d'ornement. Les Anthroposols construits sont le résultat d'une action volontaire de construction d'un « sol » en utilisant des matériaux technologiques, considérés comme des déchets, pour l'installation d'une végétation. L'objectif est d'obtenir un milieu susceptible d'accueillir une végétation. Les propriétés physiques et chimiques de l'Anthroposol seront susceptibles d'évoluer très rapidement au cours des premières années après sa mise en place. » (Baize et Girard, 2008).

-« Les **Anthroposols archéologiques** ont subi des modifications anthropiques anciennes (mise en place d'un matériau archéo-anthropique), sur plus de 50 cm d'épaisseur depuis la surface. Des couches contenant plus de 20% (en volume) de débris d'activités humaines peuvent y être observées. » (Baize et Girard, 2008).

• Les Technosols

D'après le *World Reference Base for soil resources* (IUSS Working Group WRB, 2014), les Technosols sont définis comme des sols contenant: (i) un nombre substantiel d'artéfacts (*i.e.* de substances dans le sol, liquides ou solides, reconnues comme fabriquées par l'Homme ou extraites depuis de grandes profondeurs) à plus de 20% (en volume ou en masse); (ii) et/ou un scellement continu imperméable ou une géomembrane construite, (iii) et/ou des matériaux rocheux technique d'origine anthropique (Rossiter, 2007).

D'autres scientifiques ont classé les sols anthropisés autrement, en se basant sur leur usage plutôt que sur leurs paramètres pédologiques. Ils utilisent alors le terme de **SUITMA**, pour Sols urbains, industriels, de trafic routier, miniers et aires militaires (Encadré 1). Cette catégorie de sols n'est pas une classification au sens pédologique du terme, comme peuvent l'être les Anthroposols ou les Technosols.

Encadré 1.1 : Les SUITMA

Burghardt en 1998 a proposé la dénomination de SUITMAs (*Soils of Urban, Industrial, Traffic, Mining and military Areas* en anglais) pour caractériser des sols très anthropisés (Morel *et al.*, 2014). Elle repose surtout sur le type d'activité humaine et considère la capacité de ces sols à être re-végétalisés. Les SUITMAs sont altérés par les activités humaines, ce qui les distingue des sols de milieux naturels (El Khalil *et al.*, 2008, 2013). Pourtant, il est à noter que tous les SUITMA ne sont pas des Technosols ou Anthrosols. Ces SUITMAs ont été classés sur la base de paramètres physico-chimiques et de leur capacité à être support de végétation. Ils peuvent être ainsi ordonnés selon un gradient d'anthropisation allant des sols très anthropisés, moyennement anthropisés et peu ou pas anthropisés (Figure 1.2).

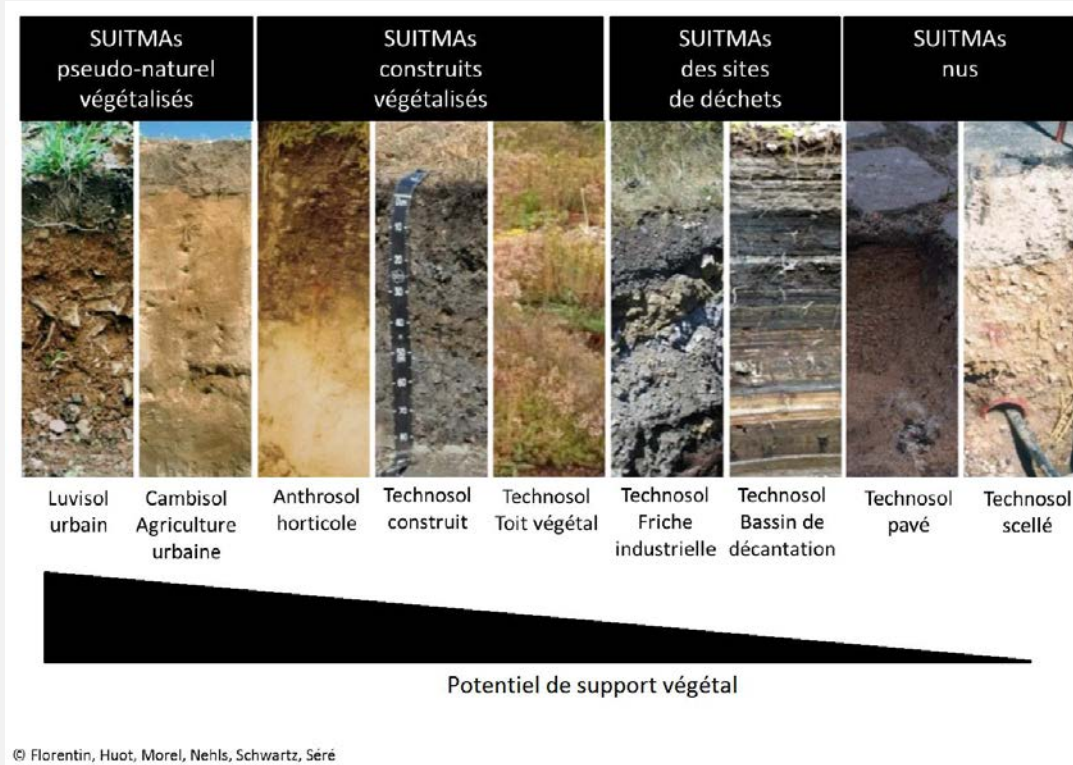


Figure 1.2 : Proposition de groupes de SUITMAs selon leur capacité à être support de végétation (Morel *et al.*, 2014).

La limite entre « anthropisés » et « fortement anthropisés » n'est pas claire car la définition de l'anthropisation se base selon l'usage d'un sol alors que le caractère « fortement anthropisé » (notamment d'Anthrosols/Technosols) se base sur des caractères pédologiques (voir partie II.2), ou parfois sur la distinction entre sols agricoles/forestiers (sols anthropisés) et sols industriels/urbains (sols fortement anthropisés). Une troisième dimension peut également s'ajouter à ces classements : l'aire géographique. En effet, de nombreux travaux sur

l'anthropisation des sols portent sur des sols nommés « urbains ». Toutefois, cette dénomination ne se base ni sur l'usage, ni sur des critères pédologiques, bien qu'une large majorité des sols urbains soient des Anthrosols/Technosols (Blanchart *et al.*, 2017).

II.2.2. Caractéristiques physico-chimiques et fonctions des sols fortement anthropisés

Nous avons vu précédemment que les différentes définitions des Anthrosols font références à quelques paramètres physico-chimiques (*e.g.* substances dans le sol, liquides ou solides, reconnues comme fabriquées par l'humain) sans donner plus de précisions. Toutefois, certains paramètres physico-chimiques peuvent être cités comme caractéristiques car récurrents dans les sols anthropisés (Morel *et al.*, 2005), ce qui les différencie significativement des sols naturels. Ainsi, deux principaux paramètres sont caractéristiques de ces sols récentes de l'Homme et présentant une diversification : ils sont **peu fertiles et parfois pollués** (Wong et Bradshaw, 2002). Au niveau de la fertilité, les principales contraintes physiques peuvent être provoquées par la présence de matériaux anthropiques et par la compaction (humaines ou lors des processus pédogénétiques (Séré *et al.*, 2010)), avec un déficit fort en agrégats stables, notamment lié à des teneurs faibles en argiles et de fortes teneurs en sables (Lefort *et al.*, 2006), ce qui limite la formation de complexes argilo-humiques. Au niveau chimique, des insuffisances en nutriments, notamment en azote, phosphore et potassium, ainsi qu'en matières organiques sont souvent observées dans ces sols (Sheoran *et al.*, 2010). Les valeurs extrêmes de pH sont une autre des caractéristiques des sols anthropisés ; les sols miniers possèdent des pH acides (liés aux minéraux sulfurés) alors que les sols urbains ou de friches industrielles (sidérurgique par exemple), sont plutôt caractérisés par des pH basiques, du fait de la présence de matériaux anthropogéniques alcalins (matériaux carbonatés). Ces valeurs de pH ont des conséquences significatives sur la disponibilité des éléments.

Ces sols peuvent présenter des teneurs plus ou moins élevées en polluants métalliques, tels que les ETM, en polluants organiques, tels que les hydrocarbures, ou avoir les deux types de contamination. Ces contaminants peuvent présenter un risque sanitaire et environnemental (Reddy et Chirakkara, 2013). Pour donner un ordre d'idée des teneurs en ETM considérées comme dangereuses dans un sol, un extrait de la norme française, de l'Arrêté du 2 février 1998 est présenté ci-dessous (Tableau 1.2).

Tableau 1.2 : Valeurs extraites de la norme française relative aux teneurs maximales en ETM dans les sols (en mg.kg⁻¹ de sol sec) issues de l'arrêté du 2 février 1998.

Teneur totale dans les sols accueillant les boues (mg.kg ⁻¹)	Cd	Pb	Zn	Ni	Co	Cr	Cu
Seuil d'anomalie	2	100	300	50	30	150	100
Seuil d'investigation	4	200	600	100	60	300	200
Seuil de traitement	10	500	1500	250	150	750	500
Seuil d'urgence	20	1000	3000	500	300	1000	1000

Les HAP figurent comme les principaux polluants organiques étudiés et 16 d'entre eux ont été classés comme prioritaires par l'Agence de protection de l'environnement des Etats-Unis (1999) pour le diagnostic des pollutions des sols. Le tableau ci-dessous donne des ordres de grandeur des teneurs qui peuvent être retrouvées dans des sols anthropisés (Tableau 1.3).

Tableau 1.3 : Exemples de composition de sols industriels pollués par des HAP (Crone, 2001).

Teneur totale dans les sols (mg.kg ⁻¹)	Somme des 16 HAP
Sols issues de traitement de bois (créosote)	245-5400
Distillation de goudrons	963
Usine à gaz	33-21300

Les activités humaines vont parfois engendrer des modifications des composantes abiotiques et/ou biotiques à un point tel que ses fonctions et services vont être affectés. Ainsi, ces sols fortement anthropisés sont caractérisés par le dysfonctionnement des cycles biogéochimiques majeurs concernant l'ensemble des compartiments de l'écosystème (abiotiques et biotiques) (Vitousek *et al.*, 1997). Même si ces sols sont fortement perturbés, ils possèdent une capacité à supporter une végétation, à abriter des organismes (Cébron *et al.*, 2011), à décomposer la matière organique (Lucisine, 2015) et à recycler les éléments (Pavao-Zuckerman, 2008), ce qui témoigne d'un fonctionnement (peut-être limité et/ou différent, mais existant) de ces sols.

Ainsi, Morel *et al.* (2014b) ont proposé d'évaluer les services écosystémiques fournis par les SUTMA (Tableau 1.4). Les sols pseudo-naturels végétalisés et les sols construits végétalisés rempliraient de nombreux services écosystémiques (*e.g.* habitat pour la biodiversité) alors que les sols constitués de déchets et surtout les sols nus perdent de nombreux services écosystémiques comparés aux sols naturels.

Tableau 1.4 : Proposition de catégories des SUTMA basée selon les services écosystémiques qu'ils assurent (Morel *et al.*, 2014b).

		SUTMA			
		Pseudo-naturel végétalisés	Construits végétalisés	Des sites de déchets	Nus
Services d'approvisionnement	Production alimentaire	++	++	(+)	0
	Production non-alimentaire	++	++(+)	++	0
	Reserve de minéraux	+	+	+++	0
	Approvisionnement d'eau douce	0	+	0	+++
Services de régulation	Stockage d'eau	++	+++	++	+
	Contrôle des écoulements et inondations	+++	++(+)	+	+(+)
	Atténuation de la pollution	++	+++	++	+++
	Climats global	+++	++	0	+
	Climat local	+++	++	+	0
	Biodiversité	+++	+++	++	0
	Espèces invasives	0	++	0	0
	Purification de l'air	+++	++	+	0
	Contrôle du bruit	++	+++	++	+
	Tourismes/Récréation	+++	++	0	0
Services culturels	Archéologie	+	+	+++	++
	Paysage	++	+++	+	+
	Education	+++	+++	++	+

Afin de retrouver ou d'améliorer les fonctions et services écosystémiques des sols fortement anthropisés, des techniques de remédiation et de réhabilitation sont envisageables.

II.3 Remédiation et réhabilitation des sols fortement anthropisés

L'impact de l'anthropisation sur les sols est parfois tel qu'il est nécessaire d'avoir recours à des stratégies de remédiation (lorsqu'un risque de contamination est présent) et de réhabilitation afin de permettre aux sols fortement anthropisés de retrouver leurs fonctions (Adhikari et Hartemink, 2016; Bastida *et al.*, 2010; Wali, 1999). En effet dans un contexte de raréfaction de surfaces cultivables, il peut être intéressant de restaurer certains sols sur la base de leurs fonctions naturelles, c'est-à-dire support pour la biomasse, filtre, tampon, transformation des éléments et support de vie et de diversité (Séré *et al.*, 2008).

II.3.1 Les techniques de remédiation

Lorsque les sols anthropisés sont contaminés, une **remédiation** est nécessaire avant tout processus de réhabilitation (Laurent, 2012). La gestion de ces polluants passe donc par l'utilisation de techniques de dépollution physiques, chimiques et/ou biologiques (Jones et Rowe, 2017), afin de réduire la concentration en polluants et être en dessous des seuils présentant un risque pour l'environnement et les populations humaines. La technique de remédiation dépend principalement de la nature de la pollution (organique et/ou métallique) et de l'environnement

du site. Ces techniques sont largement détaillées et leur conditions d'application, *in situ*, sur site ou hors site, sont bien définies (ADEME, 2008; INERIS, 2010; BRGM, 2017). Pour les polluants rencontrés sur les sites qui seront abordés dans cette thèse, notamment les HAP et les métaux lourds, les techniques de remédiation sont physico-chimiques ou biologiques. Par exemple, pour la remédiation de sols pollués par des HAP, la désorption thermique (technique physique *ex situ*), qui consiste à chauffer entre 400 et 600°C le sol, peut être utilisée. Toutefois, cela induit de graves altérations des sols, notamment au niveau biologique (Colombano *et al.*, 2010). Les techniques chimiques, comme l'oxydation *in situ*, sont aussi largement étudiées (Huling et Pivetz, 2006). Les traitements biologiques (*ex-* ou *in situ*) se basent sur la biodégradation des polluants en utilisant la capacité des micro-organismes à minéraliser les contaminants organiques ou à modifier la disponibilité des ETM. Ainsi, l'inoculation de microorganismes spécifiques, ou l'apport de nutriments ou d'oxygène à des fins de stimulation, permet d'augmenter les rendements de dégradation des contaminants organiques, dans des conditions contrôlées (Colombano *et al.*, 2010). Cette technique peut être réalisée sur site ou hors site, dans des biopiles ou biotertres. Les sols placés sous bâche sont sous aération forcée continue, ce qui favorise la minéralisation des contaminants par les micro-organismes indigènes, et/ou la microflore bioaugmentée. Même si elles sont plutôt encore au stade expérimental avancé, les techniques de phytoremédiation représentent un potentiel intéressant, en complément d'autres techniques, pour les pollutions organiques et métalliques (Ouvrard *et al.*, 2011; Tangahu *et al.*, 2011; Razzaq, 2017). L'inoculation de microorganismes, tels que les champignons mycorhiziens, ou les PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) est également envisagée dans les stratégies de phytoremédiation de contaminants organiques, ou de phytoextraction de polluants métalliques. Ces champignons peuvent non seulement améliorer les défenses des plantes contre les stress engendrés par la contamination, et améliorer leur croissance dans ces milieux contaminés, mais aussi favoriser la dépollution des sols (Leyval *et al.*, 2002) (voir partie III.2.2.2).

Parmi les techniques de remédiation, l'**atténuation naturelle** est définie comme « l'ensemble des processus qui permettent naturellement, sans intervention humaine, la réduction des concentrations, du volume, de la mobilité voire de la toxicité d'un panache de contaminants » (BRGM, 2003). Elle rassemble des phénomènes non-destructifs (*e.g.* dilution, sorption) et destructifs (diminution de la quantité, du volume, voire de la toxicité). La destruction peut être biotique (*e.g.* faisant intervenir des micro-organismes qui dégradent voire minéralisent des polluants organiques) ou abiotique (*e.g.* hydrolyse, oxydoréduction, dehydrohalogenation) (Krishna *et al.*, 2010; Mulligan et Yong, 2004). L'atténuation naturelle est acceptée de manière croissante en tant que « procédé » de dépollution lorsque la contamination ne présente pas de risque pour l'environnement et la santé humaine, et n'en présentera pas durant toute la durée du procédé (généralement de 10 à 50 ans) (Roudier, 2005). Dans ce cas, la biodiversité (flore, faune,

micro-organismes *etc.*), qui est présente ou qui s'installe sur ces sites, va naturellement agir sur la contamination en dégradant les molécules organiques ou en modifiant la disponibilité des contaminants. Cette atténuation naturelle peut être assistée par la présence de plantes (Leyval *et al.*, 2016).

Dans ces techniques de remédiation, l'objectif est la diminution de la concentration en contaminants et de leur toxicité dans l'environnement. Cependant, après certains de ces traitements, les fonctions naturelles des sols peuvent être fortement impactées. Ainsi, la réhabilitation de ces sols fortement anthropisés, leur permettant de retrouver des fonctions durables, est également un enjeu considérable.

II.3.2 Les techniques de réhabilitation

Les techniques de dépollution ne permettent pas forcément au sol de restaurer ses fonctions primaires (Norini, 2007). Dans ce cas, une réhabilitation par des interventions liées au génie pédologique peuvent compléter les techniques de dépollution. La **réhabilitation** désigne « la création d'un écosystème identique à celui qui était présent avant perturbation, avec la possibilité d'introduire des éléments différents, mais capable d'assurer les mêmes fonctions. Dans ce cadre-là, ce terme est associé au terme de refonctionnalisation, traduisant un retour des fonctions primaires du sol » (Séré, 2007; Laurent, 2012). Pour cela, certains paramètres comme la capacité de rétention en eau, les teneurs en nutriments, l'accumulation de matières organiques doivent être restaurés (Carter, 2002). Bien qu'il ne soit pas explicité dans la définition de l'atténuation naturelle, ce mode de gestion pourrait accroître la fertilité des sols, en permettant l'installation et l'action des successions primaires (végétal, animal et microbienne), mais cela demande du temps. Pour réhabiliter un sol fortement anthropisés, différents procédés plus ou moins coûteux et plus ou moins longs existent. Généralement, l'installation d'une végétation est essentielle pour une restauration efficace car elle améliore à la fois les caractéristiques physiques, chimiques et biologiques du sol (Harrington, 1999).

Une des méthodes pour favoriser la recolonisation par les plantes consiste à apporter une couche de terre végétale⁵ afin qu'elle agisse comme un inoculum (Bradshaw, 2000). Néanmoins, la terre végétale n'est pas toujours disponible à proximité du site et son coût économique et environnemental peut être élevé (Séré, 2007). Il peut donc paraître pertinent d'apporter des matières organiques exogènes issues des sous-produits industriels, aux propriétés fertilisantes

⁵ Terre végétale : terre issue de l'horizon supérieur de sols forestiers ou agricoles pourvue en nutriments et en matières organiques (Laurent, 2012)

intéressantes, car souvent disponibles à faibles coûts (Vetterlein et Hüttl, 1999). Par exemple, les sous-produits papetiers constituent un substrat adapté au développement microbien (Ribeiro *et al.*, 2010) et utilisable pour améliorer les propriétés du sol (Nemati *et al.*, 2000). Les déchets organiques issus de stations d'épuration des eaux usées urbaines constituent également des substrats particulièrement bien adaptés au développement microbien (Pascual *et al.*, 1998; Crecchio *et al.*, 2004). L'utilisation de produits et sous-produits pour la construction de sols est aujourd'hui une voie prometteuse pour la réhabilitation des sols fortement anthropisés.

Ainsi, à l'instar d'un sol naturel, il est possible d'associer différents matériaux anthropiques (comme la terre végétale, la terre de biopiles, les boues de papeteries *etc.*) pour constituer différentes couches, au-dessus ou en mélange, du sol fortement anthropisé : il s'agit de la **construction de sol**. L'objectif premier est de permettre une implantation optimale et pérenne de la végétation. Le développement du génie pédologique a démontré la faisabilité de construire un sol exclusivement avec des sous-produits industriels, tout en redonnant au sol fortement anthropisé certaines propriétés agronomiques (Séré *et al.*, 2008). Au niveau pédologique, ces sols sont des Anthrosols construits, selon le référentiel pédologique (Baize et Girard, 2008) ou des Technosols, selon le référentiel international (IUSS Working Group WRB, 2014).

Même après l'élaboration de certaines techniques de remédiation et réhabilitation, de nombreux sols fortement anthropisés restent sans usage, conduisant à l'abandon de ces sites et donnant naissance à des sols délaissés.

II.4 Cas particulier des sols fortement anthropisés : les sols délaissés

La cessation des activités industrielles a conduit à la naissance de sites à l'abandon, de zones où les installations ont été démantelées mais qui n'ont pas fait l'objet d'une reconversion. En effet, ces sols présentent généralement une contamination modérée et une faible fertilité, empêchant leur réutilisation. Les concentrations en polluants et les risques associés n'étant pas assez élevés pour nécessiter des procédés de dépollution, ainsi que la faible pression foncière et économique, ajoutées à une faible fertilité, contribuent à expliquer l'abandon de ces sites et leur absence d'usage. De plus, même après remédiation et/ou restauration, ces sols ne retrouvent pas forcément d'usage (Figure 1.3).

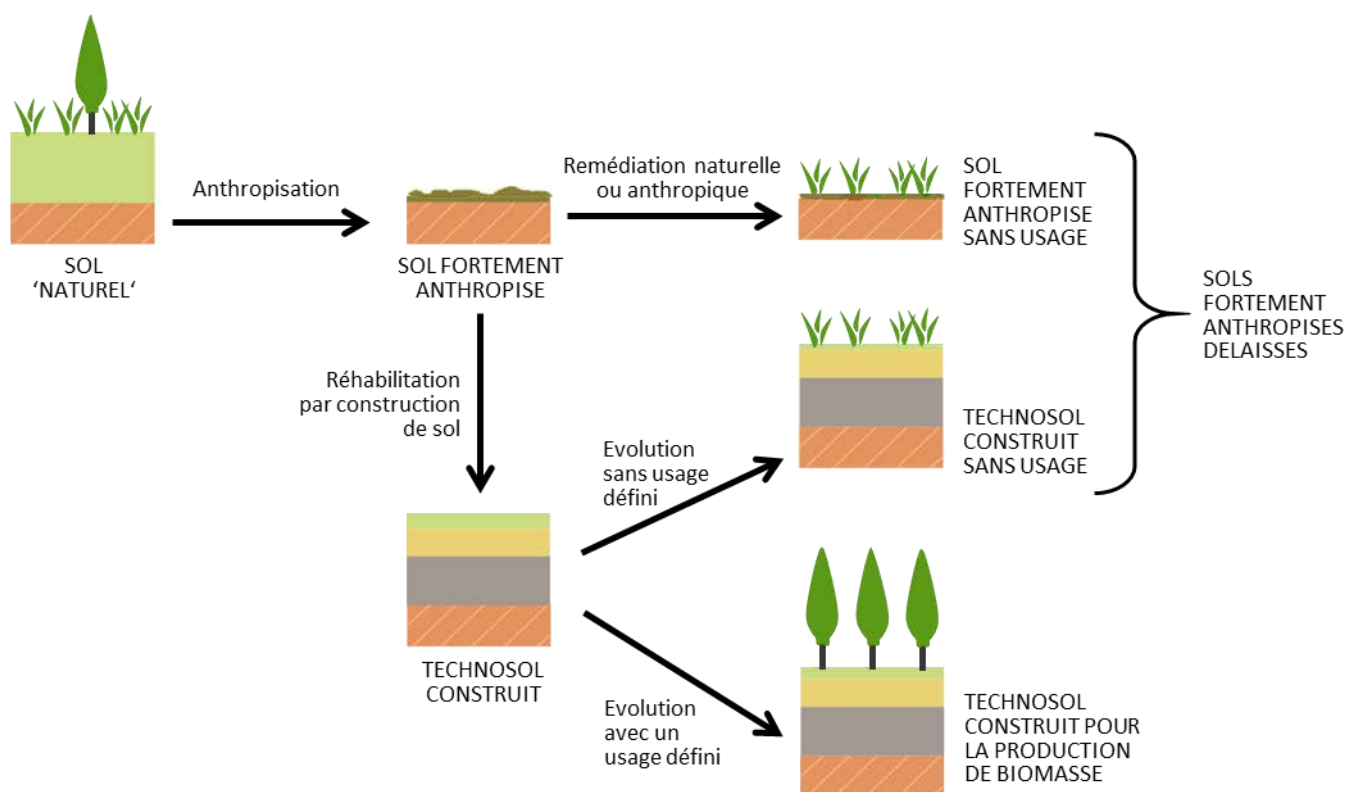


Figure 1.3 : Schéma simplifié des évolutions possibles des sols fortement anthropisés donnant naissance à des sols délaissés.

II.4.1 Définitions des sols délaissés

Qu'appelle-t-on un sol délaissé⁶ ? Il existe de nombreuses entrées pour aborder les sols délaissés (économique, urbanistique, paysagère, politique, législatif *etc.*) (Tableau 1.5). La réalité complexe et l'hétérogénéité de ces espaces sont soulignées par la multiplication des termes utilisés pour les nommer, notamment dans les milieux de l'architecture et de l'urbanisme : terrains vagues, dents creuses, interstices, friches *etc.* Les espaces délaissés présentent aussi une grande diversité de formes, de tailles et d'emplacements. Selon Pilot (2015), un sol délaissé peut être géré (fauché, tondu *etc.*) mais rester sans usage précis.

Tableau 1.5 : Principales appellations des sols délaissés retrouvées dans la littérature. *Les travaux cités portent également sur l'étude de la biodiversité (voir partie III)*

Noms en anglais	Noms en français	Exemples de références
Greenfields	Terrains nu	(Bartke et Schwarze, 2015)
Wastelands	Friche	(Bonthoux <i>et al.</i> , 2014)
Brownfield	Friche (industrielle)	(Macadam et Bairner, 2012; Small <i>et al.</i> , 2006)
Vacant land	Site vacant	(Anderson et Minor, 2017; Kim <i>et al.</i> , 2015)
Abandoned land	Site abandonné	(Hedlund <i>et al.</i> , 2003)
Derelict land	Site délaissé	(Small <i>et al.</i> , 2006)
Marginal land	Site marginaux	(Schröder <i>et al.</i> , 2017)

⁶ Dans un souci de simplification, le terme de sol délaissé sera parfois synonyme de site délaissé

Si l'on cherche à donner une définition plus écologique à ces sites, ils pourraient être déclinés selon différents types de milieux, décrits d'après le guide d'identification simplifiée des divers types d'habitats naturels (Bardat 1993). Ainsi, nous retiendrons les terrains en friche et terrains vagues comme définitions potentielles issues du Code CORINE⁷ : 87.

- **Les terrains en friche** (Code CORINE : 87.1) : Ces milieux ouverts caractérisent les secteurs récemment ou régulièrement perturbés, aboutissant souvent à une dynamique spontanée, par l'installation d'une strate arbustive puis d'une strate arborée pour former à terme un taillis boisé. Cet habitat est dominé par des formations herbacées hautes. On retrouve des espèces rudérales typiques et des espèces prairiales.
- **Les zones rudérales** (Code CORINE : 87.2) : Ces habitats sont des espaces marginaux caractérisés par des perturbations régulières ou récentes de l'Homme et présentant une diversification temporaire des communautés.

L'analyse des termes retrouvés dans la littérature faisant référence aux sols délaissés permet de définir simplement les sols délaissés comme des sols fortement anthropisés sans usage défini.

II.4.2 Pourquoi délaisse-t-on des sols ?

• La désindustrialisation et l'étalement urbain

L'apparition de sols délaissés est caractéristique d'un contexte de crise et de transition. L'existence de ces sols délaissés est liée à la désindustrialisation mais aussi aux phénomènes d'étalement urbain.

La croissance urbaine a conduit à l'émergence de zones intermédiaires floues, sans usage, ou de zones à usage unique, peu modulables. Intensifié durant ce dernier siècle suite à l'arrêt de nombreuses activités industrielles, le « terrain vague » de l'ère industrielle disparaît au profit du sol délaissé (Paris, 2000). En 2016, environ 100000 ha de friches ont été répertoriés en France (ADEME, 2016) dont 8000 ha en Lorraine. Cette crise a maintenu en l'état un certain nombre de sites délaissés qui sont en attente de projet. La dépollution et la viabilisation de ce type de terrain ont souvent un coût important que les collectivités locales ont du mal à prendre en charge (Pillot, 2015).

⁷ CORINE : COordination et Recherche de l'INformation en Environnement

- **Les sols délaissés : un problème réglementaire, économique et sociétal**

Dans le droit français, le terme de sols délaissés n'existe pas, ce qui complique la mise en place d'instruments juridiques pour traiter la question. Le Code de l'urbanisme ne traite pas non plus de ces espaces délaissés. Dans les POS⁸ et PLU⁹, ces espaces délaissés ne sont pas identifiés. Dans ces documents, seuls sont indiqués les usages souhaités mais ils ne prennent pas en compte les caractéristiques des sols de ces sites (Pillot, 2015). En revanche, le Code rural et le Code forestier contiennent deux notions proches des délaissés et concernent des territoires non urbains (Paris, 2000). Ces deux notions sont « zones dégradées » (art. 52-1) et « terres incultes ou manifestement sous exploitées » (art. 39 à 45). La notion de friche est abordée dans la législation (notamment celle des ICPE¹⁰) mais uniquement lorsque le site est pollué, au travers de l'identification des responsables de la pollution pour la remise en état des friches industrielles et le développement des outils juridiques relatifs à leur changement d'usage (loi Alur, n° 2014-366 du 24 mars 2014). Ainsi, il n'existe aucune réglementation obligeant une commune ou une intercommunalité à requalifier ou convertir ces zones délaissées. Néanmoins, les réglementations sont de plus en plus exigeantes au sujet de la densité urbaine et restrictives vis-à-vis des espaces naturels, ce qui incite les collectivités à investir ces espaces délaissés.

Un sol est délaissé parce qu'il coûte cher à aménager : parfois pollué, non-rentable, non attractif et souvent impossible à être utilisé pour de la culture ou à entretenir en espace paysager. Il coûte également cher à la société, notamment en taxes foncières. La crainte d'une déprise définitive contraint le responsable du sol délaissé à un entretien minimal en attendant l'affectation d'un projet de gestion à ce sol.

Malgré les problèmes engendrés par ces sites, ils présentent un intérêt croissant car ce sont des surfaces potentiellement revalorisables (Anderson et Minor, 2017; Schröder *et al.*, 2017). Au final, ces sites représentent une ressource pour de nombreux services, mais restent encore trop peu étudiés.

II.4.1 Caractéristiques des sols délaissés.

De façon générale, les différentes caractéristiques physico-chimiques des sols délaissés conduisent à de nombreuses contraintes affectant leur fonctionnement, qui sont celles déjà présentées des anthrosols (Tableau 1.6). Malgré ces différentes contraintes, les sols anthropisés peuvent assurer des fonctions et rendre des services pour l'Homme, comme nous l'avons vu précédemment (voir partie II.2.3).

⁸ Plans d'occupation des sols

⁹ Plan local d'urbanisme

¹⁰ Installation classées pour la protection de l'environnement

Tableau 1.6 : Principales contraintes dans les sols délaissés (Wong et Bradshaw, 2002).

* Hydrocarbures aromatiques polycycliques. ** Eléments traces métalliques.

Contraintes	Problèmes associés
Compaction	Colonisation racinaire et de la faune limitée Percolation de l'eau limitée
Structure des particules	Capacité de rétention en eau faible Manque de matière organique
Nutrition	Manque de nutriments pour les organismes (notamment l'azote)
Intégrité biologique	Développement du sol limité Fonction de décomposition limitée
Toxicité	pH extrêmes Salinité Contaminations aux composés organiques (HAP* notamment) Contamination aux ETM** (Cd, Pb, Zn notamment)

Ainsi, les sols délaissés pourraient être envisagés comme une ressource la **production de biomasse végétale** (Wilschut *et al.*, 2013; Lord, 2015; Schröder *et al.*, 2017). La revalorisation des sols délaissés n'est pas récente car certaines études portaient déjà sur ce sujet dans les années 80 (Broughton, 1985). Anderson et Minor (2017) ont récemment fait une synthèse des potentiels bénéfiques rendus par les sols délaissés. Certains auteurs ont souligné le potentiel de ces sols délaissés comme **réserve de biodiversité**, pouvant ainsi contribuer à la conservation d'espèces rares et menacées (Harrison et Davies, 2002; Muratet *et al.*, 2007). Ces sols offrent un refuge pour les plantes (Robinson et Lundholm, 2012), la mégafaune, notamment les petits mammifères (Magle *et al.*, 2010) et les oiseaux (Ortega-Álvarez et MacGregor-Fors, 2009). Une biodiversité tellurique importante a également été observée dans des sols délaissés, pour les insectes (Uno *et al.*, 2010; Gardiner *et al.*, 2013, 2014), notamment les coléoptères (Eyre *et al.*, 2003) et carabes (Small *et al.*, 2002), les micro-arthropodes comme les collemboles (Joimel *et al.*, 2017), ainsi que les micro-organismes, notamment les champignons mycorhiziens (Gange et Brown 2002).

Les sols délaissés, qui présentent des surfaces considérables, pourraient représenter une ressource, fournissent plusieurs services écosystémiques, comme la production de biomasse végétale et être un réservoir de biodiversité. Pour évaluer le potentiel de valorisation de ces sols délaissés, il est nécessaire de considérer différents types de sols délaissés (*e.g.* friches industrielles, sols construits, sols urbains *etc.*), et de caractériser leurs propriétés physico-chimiques, biologiques et fonctionnelles. Actuellement peu d'études ont caractérisé plusieurs sols délaissés ainsi que leurs potentiels de valorisation en intégrant toutes leurs caractéristiques.

III LA BIODIVERSITE DES SOLS

Le sol représente un des réservoirs les plus importants de biodiversité (ou diversité biologique). En effet, la biodiversité dans les sols correspond à plusieurs ordres de grandeur comparé à celle observée au-dessus du sol (aboveground) (Heywood, 1995). Cette biodiversité n'est pas seulement quantitativement très élevée mais également active, c'est-à-dire fonctionnelle. En effet, il est maintenant reconnu que les organismes du sol (microorganismes et faune du sol) jouent des rôles fondamentaux dans le fonctionnement des écosystèmes, rendant de ce fait un grand nombre de services écosystémiques (Lavelle et Spain, 2001). Dans cette partie, les concepts généraux de biodiversité et les méthodes pour l'appréhender seront définis. Ensuite, nous présenterons les acteurs de la biodiversité vivant dans les sols, pour se focaliser ensuite sur les micro-organismes (bactéries et champignons) et la faune (més- et macrofaune) du sol.

III.1 Concepts et mesures de la biodiversité

III.1.1 La biodiversité : un concept parfois flou

Le terme de biodiversité, apparu vers la fin des années 70, est la contraction des termes « *biological diversity* » et désigne la diversité biologique qui peuple la biosphère. Ce terme a suscité une vaste diffusion après la conférence des Nations Unies à Rio en juin 1992, traitant de l'environnement et du développement durable, et qui s'est focalisée sur la sauvegarde de la biodiversité. Victime de son succès, ce terme s'est banalisé et a parfois perdu son sens scientifique jusqu'à en devenir un concept flou, même pour la communauté scientifique (Kaennel, 1998; Blandin, 2014). Pour donner un exemple, lors des dix premières années après l'apparition du terme biodiversité, Delord (2014) avait recensé 85 définitions différentes provenant de la littérature scientifique s'y rapportant.

Par exemple, l'UICN (1988) définissent la biodiversité comme « la variabilité de tous les organismes vivants. Ceci inclut la variabilité génétique à l'intérieur des espèces et de leurs populations, la variabilité des espèces et de leurs formes de vie, la diversité des complexes d'espèces associées et de leurs interactions, et celle des processus écologiques qu'ils influencent ou dont ils sont les acteurs ». Dans leur définition, la structure des communautés et les interactions entre ces espèces est considérée comme une forme de biodiversité, ce qui n'est pas le cas de Wilson (2000). En effet, il définit la biodiversité comme « la diversité de toutes les formes du vivant. Pour un scientifique, c'est toute la variété du vivant étudiée à trois niveaux : les écosystèmes, les espèces qui composent les écosystèmes et, enfin, les gènes que l'on trouve dans

chaque espèce ». Pour Le Guyader (2008), la caractérisation de ces entités étant floue, la notion de biodiversité l'est aussi : il est donc nécessaire de la caractériser.

Au problème de sémantique s'ajoute des difficultés techniques. Le terme de biodiversité (taxonomique) concerne le plus souvent la richesse en espèces. Toutefois, il est souvent impossible de prendre en compte la totalité des espèces de la communauté entière (Marcon, 2016), en raison des limites techniques (*e.g.* limites d'échantillonnages et d'identifications) et scientifiques (dépendant des avancées phylogénétiques notamment) (Encadré 1.2). La mesure de la biodiversité (taxonomique) est alors limitée à un **taxon**, c'est-à-dire un groupe d'espèces défini selon leur nomenclature. En effet, d'autres niveaux taxonomiques plus larges que l'espèce peuvent être pris en considération comme le phylum (ou embranchement), la classe, l'ordre, la famille, le genre.

Encadré 1.2 : Le problème de l'espèce

Évaluer la richesse spécifique suppose que les espèces soient clairement définies, ce qui n'est pas forcément le cas. Par exemple, Mayden (1997) recense 22 définitions différentes du concept d'espèce. Le problème, c'est qu'en fonction de la définition choisie, la quantification de la richesse est considérablement modifiée. Agapow *et al.* (2004) ont observé une augmentation de 49% de la diversité spécifique lorsqu'ils passent d'un concept de l'espèce basé sur des critères morphologiques et biochimiques, à un concept basé sur des critères phylogénétiques (review réalisée sur 89 études portant sur l'approche de l'espèce fongique, végétale et animale). De plus, les choix des groupes taxonomiques varient selon les connaissances du moment et peuvent évoluer.

Le concept d'espèce est encore plus complexe à définir chez les bactéries. Ce problème est dû à la capacité des bactéries à échanger du matériel génétique entre elles ou d'en prélever dans l'environnement. Elles ne nécessitent donc pas de reproduction pour être génétiquement distinctes. Ceci entraîne des difficultés pour définir ce qu'est ou même ce que signifie une espèce bactérienne. C'est pour cela que les approches de la biodiversité microbienne cherchent à s'affranchir de la notion d'espèce en passant par la mesure des unités taxonomique opérationnelle ou *Operational Taxonomic Unit* (OTU). Les OTU sont des groupes d'organismes, regroupés sur la base de la similarité de leur séquence d'ADN d'un gène donné, qui sert de marqueur taxonomique (*e.g.* 16S chez les bactéries et 18S chez les champignons).

Pour donner une définition de la biodiversité, nous proposons de retenir celle de Sandlund *et al.* (1993). Pour ces auteurs, la **biodiversité** est « la variabilité structurale et fonctionnelle des diverses formes de vie qui peuplent la biosphère, aux niveaux d'organisation et de complexité croissants : au niveau génétique, de la population, de l'espèce, de la communauté et des écosystèmes ». De cette définition ressortent les notions de biodiversité taxonomique et fonctionnelle qui mettent en avant la nécessité d'appréhender et de mesurer la biodiversité sous ces deux aspects.

III.1.2 La biodiversité taxonomique

La **biodiversité taxonomique** d'une communauté représente les entités systématiques qui constituent la communauté. Ainsi, la **structure taxonomique d'une communauté** correspond à sa composition selon les différents groupes taxonomiques échantillonnés, c'est-à-dire la répartition de l'abondance totale des individus dans chaque groupe taxonomique. Elle est souvent représentée sous forme d'histogramme cumulé (par l'abondance absolue ou relative de chaque taxon) ou multivariée (avec des méthodes de projections du type AFC¹¹ par exemple). La structure taxonomique de la communauté est le plus souvent illustrée selon deux indices : la richesse taxonomique et l'équitabilité.

- **La richesse taxonomique** (TRic) est une métrique introduite par McIntosh (1967) qui correspond au nombre de catégories (taxa) recensées dans le système étudié. A nombre égal d'individus, plus il y a de taxa présents, plus la diversité d'une communauté est grande.
- **L'équitabilité** ou équirépartition (*evenness* ou *equitability* en anglais) (TEve) est la régularité de la distribution des taxa au sein de la communauté. L'équitabilité est maximale quand les espèces ont des abondances identiques dans l'ensemble étudié et est minimale quand une seule espèce domine la communauté. À nombre d'espèces égal, la présence d'espèces très dominantes entraîne la rareté de certaines autres. Ainsi, la diversité sera optimale lorsque l'abondance des espèces est répartie de façon régulière (Marcon, 2016). L'équitabilité est insensible à la richesse taxonomique et est donc intéressante pour comparer des communautés. Plusieurs indices sont utilisés pour exprimer mathématiquement l'équitabilité, notamment l'indice d'équitabilité de Piélou (voir chapitre « Matériel et méthodes »).

III.1.3 La biodiversité fonctionnelle

Si la prise en compte de la diversité taxonomique reste pertinente pour définir la biodiversité et traiter un certain nombre de questions liées aux systèmes biologiques (*e.g.* comparer différentes communautés, étudier les impacts potentiels d'une perturbation sur une communauté), l'approche fonctionnelle présente un potentiel fort pour comprendre le fonctionnement des organismes et des écosystèmes (Garnier *et al.*, 2004; Lavorel et Garnier, 2002).

L'objectif de cette approche est de comprendre « qui fait quoi ? » ou « qui est comment ? » et pas seulement « qui est présent ? » dans la communauté. Cette approche se base sur des notions à l'échelle individuelle. Ainsi, pour caractériser la diversité fonctionnelle, il est nécessaire d'affilier ou de mesurer des fonctions pour chaque individu. Pour cela, la recherche de caractéristiques

¹¹ AFC=Analyse Factorielle des Correspondances

fonctionnelles des organismes, appelées « **traits et préférences écologiques** », est pertinente pour décrire les fonctions des communautés.

Lorsque l'on regarde à l'échelle de la communauté, elle peut être représentée selon sa **structure fonctionnelle**, qui correspond à sa composition selon les différents groupes fonctionnels caractérisés. Par exemple, une communauté fongique peut être caractérisée par sa capacité à minéraliser différentes molécules (*e.g.* sucres, acides aminés, polymères), ou appartenir à un groupe trophique (*e.g.* saprophytes, symbiotiques, endophytes, pathogènes ; voir partie III.2.2.2). Une communauté de lombrics peut être caractérisée par le mode de vie des différentes espèces (être épigé, endogé ou anécique ; voir partie III.2.3) ou par la longueur des individus par exemple.

III.1.3.1 Définitions de la biodiversité fonctionnelle : une approche à l'échelle de l'individu

La notion de biodiversité fonctionnelle fait référence aux termes, « traits », « préférences écologiques », « traits fonctionnels » et « fonctions biologiques ». Toutefois, ces termes font référence à des notions bien distinctes. Dans cette partie, nous définirons ces différents termes pour mieux comprendre leurs utilisations dans les études faunistiques et microbiennes.

- **Traits et préférences écologiques**

La notion de « **trait** » a fortement été développée pour l'étude des végétaux. C'est pourquoi la première définition de ce terme était basée sur ce compartiment biotique (Garnier et Navas, 2013). Ainsi, il a été défini que le trait correspond à « toute caractéristique morphologique, physiologique ou phénologique mesurable au niveau d'un individu, de la cellule à l'organisme entier, sans qu'il soit fait référence à aucun autre niveau d'organisation, ni à aucun facteur du milieu » (Violle *et al.*, 2007). Par exemple, le mode trophique, la minéralisation de certaines molécules, la présence de mélanine peuvent être des traits chez les espèces fongiques et, le régime alimentaire, la présence d'organes sensoriels, la taille du corps peuvent être des traits chez les espèces faunistiques. Comme la définition le montre, l'approche du trait est définie au niveau de l'individu (Crisp et Cook, 2012; Lavorel *et al.*, 2007; McGill *et al.*, 2006). De plus, l'intérêt de cette approche est lié au fait que les traits sont « reliés au fonctionnement des organismes, [qu'ils] modulent leur valeur sélective, et [qu'ils] permettent d'appréhender les interactions entre les organismes et les composantes de leur environnement, et d'établir des liens entre les différents niveaux d'organisation représentés dans les systèmes écologiques » (Garnier et Navas, 2013).

La valeur ou modalité d'un trait, prise en un lieu et un instant donné, est appelée « **attribut** » (Lavorel *et al.*, 2007). Ainsi, un trait peut présenter différents attributs. Par exemple, une espèce

caractérisée par le trait « régime alimentaire » peut être « zoophage » et/ou « phytophage » et/ou « détritivore » *etc.* Si cette espèce est caractérisée par le trait « taille du corps », ce trait aura une mesure quantitative correspondant à un attribut.

Les caractéristiques des organismes dépendant des variables environnementales ne sont pas des traits car un trait ne doit pas faire référence à un facteur du milieu (*e.g.* résistance à la sécheresse, tolérance à l'ombre ou aux ETM *etc.*). Il s'agit là de « **préférences écologiques** » ; on parle aussi de « préférence d'habitat » (Garnier et Navas, 2013). Makkonen *et al.* (2011) définissent la préférence écologique comme « l'optimum et/ou l'étendue de la distribution du trait sur un gradient environnemental » (*e.g.* l'humidité du sol ou le type d'habitat).

- **Qu'est-ce qu'une fonction biologique ?**

La plupart des traits¹² renseignent sur une ou des fonction(s) biologique(s). Nous avons choisi de définir une **fonction biologique** comme étant « l'ensemble des actes accomplis par une structure organique définie en vue d'un résultat déterminé » (Garnier et Navas, 2013).

- **Traits fonctionnels**

Le terme de « **trait fonctionnel** » est souvent employé dans la littérature, mais a un sens bien précis. En effet, un trait est fonctionnel lorsqu'il influence la performance d'un organisme et par conséquent sa valeur sélective (Violle *et al.*, 2007).

Il est important de bien préciser que lorsque nous parlons de « traits fonctionnels », nous parlons de « fonctions biologiques » et non de « fonctions écosystémiques ». De façon générale, lorsque la structure fonctionnelle d'une communauté est étudiée, il s'agit avant tout de « fonctions biologiques ». Même si certains auteurs soutiennent le fait que l'approche des traits renseigne sur les fonctions écosystémiques des sols (Lavelle, 1997; Lavorel *et al.*, 2013; Krause *et al.*, 2014), relier une fonction biologique, *i.e.* une fonction pour l'organisme, à une fonction écosystémique n'est pas évident.

L'écologie fonctionnelle n'est pas récente mais son utilisation dans certains compartiments biotiques l'est. Pour la faune du sol, l'approche fonctionnelle récente a nécessité de conceptualiser, homogénéiser et mesurer correctement les traits. Pour la microflore, l'intérêt de cette approche est grandissant mais de nombreuses imprécisions subsistent notamment dans la définition des concepts et des mesures.

¹² Des questions subsistent sur ce point, notamment sur le fait qu'un trait renseigne forcément sur une fonction ou pas.

III.1.3.2 Faune du sol et approches fonctionnelles

Lorsque la communauté scientifique s'est intéressée à l'étude des traits chez les invertébrés du sol, il a été nécessaire d'ajouter à la définition de Violle (2007) la caractéristique comportementale présente chez les animaux et non présente chez les végétaux¹³. Ainsi, Pey *et al.* (2014) ont défini un trait comme étant « n'importe quelle caractéristique morphologique, physiologique, phénologique et comportementale (MPPC) mesurable au niveau de l'organisme, de la cellule jusqu'à l'organisme entier, sans référence à son environnement ou à un quelconque niveau d'organisation ». L'approche des traits a été utilisée pour prédire les réponses aux changements environnementaux des communautés faunistiques comme les nématodes (Cesarz *et al.*, 2015), les acariens (Lindo *et al.*, 2012), les collemboles (Makkonen *et al.*, 2011; Widenfalk *et al.*, 2015) et la macrofaune (Sattler *et al.*, 2010; Hedde *et al.*, 2012; Korobushkin *et al.*, 2017). Toutefois, il est encore difficile de connaître précisément en quoi les traits des organismes affectent les fonctions écosystémiques (Briones, 2014; Kardol *et al.*, 2016).

L'approche traits de la faune du sol regroupe des organismes différents dans leur caractéristiques MPPC ce qui pose la question des méthodes de mesure, qui doivent être standardisées, pour comparer les organismes entre eux selon leurs traits ; il s'agit là d'une des premières approches multi-compartimentales. C'est ce qu'on fait récemment Moretti *et al.* (2017) en réalisant un guide de protocoles pour la mesure standardisée de 29 traits chez les invertébrés du sol. Ces traits ont été choisis car ils recouvrent une large gamme de fonctions primaires, associées à la performance des espèces, aux processus d'assemblage des communautés et aux interactions entre les niveaux trophiques, ce qui les rend intéressants pour mieux comprendre le fonctionnement de l'écosystème. L'étude des traits pour une approche multi-taxa en est encore aux prémices, bien que l'on puisse supposer qu'une telle approche permettrait d'avoir une vision plus globale du fonctionnement de l'écosystème (végétaux, carabes, araignées et oiseaux par Aubin *et al.* (2013); carabes, papillons et oiseaux par Barbaro et Van Halder (2009); arthropodes du sol, espèces pollinisatrices et végétaux par Moretti et Legg (2007)). Déjà à ce niveau, le défi est de taille, mais reste encore restreint à la faune et aux végétaux. D'autres composantes biotiques, comme les micro-organismes, jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement des écosystèmes (voir partie III.2.2) ; il est donc nécessaire de caractériser ces communautés au niveau fonctionnel.

III.1.3.3 Microflore tellurique et approches fonctionnelles

L'approche par les traits n'est pas si récente dans l'étude des microorganismes. Les premières identifications microbiennes (vers 1860-1870 avec les travaux de Davaine et ceux de Koch) ont été réalisées par des mesures de traits morphologiques (*e.g.* bactéries en forme de coques,

¹³ Cela dépend probablement de la définition que l'on donne à « comportement ».

bacilles, spirales; présence de cloisons, forme du sporocarpe pour les champignons) et physiologiques (*e.g.* dégradation de substrats, type de nutrition) (Bergey *et al.*, 1923; Ainsworth *et al.*, 1973). La nécessité d'affilier des traits et préférences écologiques à des taxa microbiens commence à s'imposer dans la communauté des écologues microbiens (Allison et Martiny, 2008). En effet, l'approche par les traits offre une grande opportunité pour mettre en lien la composition des communautés et le fonctionnement des écosystèmes. Par exemple, les traits métaboliques microbiens peuvent être considérés comme des traits fonctionnels dans le cycle des éléments nutritifs. Cette approche permet également d'identifier les réponses d'un écosystème aux changements environnementaux (Martiny *et al.*, 2015). Caractériser les communautés microbiennes par l'approche des traits est cependant loin d'être aisée et deux principaux défis sont identifiés : le concept et les méthodes de mesures des traits microbiens.

- **Qu'est-ce qu'un trait microbien ?**

Martiny *et al.* (2015) ont défini les traits microbiens comme étant « n'importe quelle caractéristique physiologique, morphologique ou comportementale d'un micro-organisme, sans regarder si ce trait peut être subdivisé en traits plus simple¹⁴ ». Cette dernière partie de la définition change avec les précédentes, dédiées aux plantes et à la faune du sol, et souligne déjà la complexité de classer les traits chez les micro-organismes. Lennon *et al.* (2012) définissent autrement les traits en précisant que cette « approche fait référence à des caractéristiques physiologiques, morphologiques ou génomiques, influençant la performance ou la fitness d'un micro-organisme, sous de nombreux facteurs environnementaux ». Le terme « génomique » apparaît ici alors que le terme de « comportement » disparaît. La définition donnée par Krause *et al.* (2014) est identique à celle de Lennon *et al.* (2012) à la différence près que le terme « performance » est remplacé par « fonction ».

La présence d'un gène est souvent définie comme un trait pour les micro-organismes car un gène peut renseigner sur une fonction biologique et parfois une fonction écosystémique (*e.g.* la présence du gène de la β -Glucosidase renseigne sur la capacité de la communauté à dégrader le glucose et donc d'intervenir dans le cycle du carbone) (Treseder et Lennon, 2015). Ce trait reste toutefois potentiel car la présence d'un gène n'assure en rien son expression. La présence d'ARNm peut également être considérée comme un trait pour la même raison que la présence d'un gène. Mais là aussi, la présence d'ARNm n'assure pas sa traduction en protéine. La protéine peut être considérée comme un trait, mais une protéine peut être dans une cellule sans être fonctionnelle. L'activité de cette enzyme peut éventuellement être mesurée. Dans ce cas, s'agit-il d'un trait ou

¹⁴ Traits simples : codé par un seul locus ; Traits complexes : résultat des interactions entre plusieurs parties du génome (phénomènes d'épistasie) et sous influence de facteurs environnementaux (Martiny *et al.*, 2015).

d'une fonction ? Cette imprécision montre la nécessité de définir clairement ce qu'est un trait, un trait fonctionnel et une fonction microbienne. Par exemple, Martiny *et al.* (2015) considèrent la fixation de l'azote, la dégradation de la cellulose, l'utilisation du phosphore organique *etc.* comme des traits, alors qu'ils sont plutôt considérés comme des fonctions dans la littérature. Ils considèrent également la tolérance à la salinité comme un trait alors que, selon la définition de Violle *et al.* (2007), il s'agirait plutôt d'une préférence écologique. Ceci montre peut-être une des limites de la comparaison des concepts « traits » entre la faune (ou les végétaux) et les micro-organismes.

Pour les bactéries, certains **groupes fonctionnels** sont couramment utilisés. Nous pouvons citer les bactéries fixatrices d'azote, les nitrifiantes, nitrosantes, dénitrifiantes, les méthanogènes *etc.* Pour les champignons, des groupes fonctionnels sont également largement étudiés comme les champignons mycorhiziens, saprophytes, endophytes et pathogènes. Qu'il s'agisse des bactéries ou des champignons, ces caractéristiques ne sont pas considérées comme des « traits » mais plutôt comme des « groupes fonctionnels ». D'ailleurs, Nguyen *et al.* (2016) parlent bien de « mode trophique » et non de « trait », puisqu'ils réservent le terme de « trait » pour différencier les pourritures blanches, brunes et molles. Peut-on alors considérer ces groupes comme des traits ? Si l'on regarde la classification de Pey *et al.* (2014), on se rend bien compte que le régime alimentaire (*e.g.* détritivore, géophage, microbivore, phytophage) est considéré comme un trait pour les invertébrés du sol. La question est alors de savoir si on peut retranscrire ces concepts du monde animal au monde microbien. En effet, une approche multi-compartimentale basée sur les traits et préférences écologiques reste difficile puisque les concepts ne sont pas définis de la même façon en fonction du compartiment biotique étudié.

- **Mesurer des fonctions ou des traits microbiens : une question d'échelle**

Comme explicitée précédemment, une des difficultés de l'approche des traits chez les micro-organismes est la méthode de mesure sur ce type d'organisme. La première difficulté réside dans l'existence de différentes méthodes de mesures pour un seul trait. Par exemple, la dégradation de la cellulose peut être mesurée par la présence de gène codant pour la cellulase mais également par une mesure de l'activité enzymatique (si l'on considère l'activité enzymatique comme un trait).

Alors que chez les végétaux et les animaux, les traits peuvent être facilement mesurés à l'échelle individuelle (*e.g.* l'épaisseur des feuilles, la taille du corps), ce n'est pas le cas des micro-organismes (Martiny *et al.*, 2015). En effet, la mesure à l'échelle individuelle pour les micro-organismes est très complexe. C'est pourquoi les études fonctionnelles au niveau des communautés sont les plus répandues. En effet, pour étudier la diversité fonctionnelle à l'échelle

de la communauté, des Profils de réponses cataboliques (PRC ou *Community Level Physiological Profiles* (CLPP) en anglais) sont mesurés (Degens et Harris, 1997). Le principe est de mesurer la capacité de dégradation de plusieurs substrats par l'ensemble de la communauté microbienne (*e.g.* méthode Biolog (EcoPlates™ ou MicroResp™). N'étant plus à l'échelle de l'individu et, mesurant une fonction (si l'on considère la dégradation d'un substrat comme une fonction), les PRC sont-ils des traits ?

Toutefois, certains chercheurs ont créé des bases de données reliant un taxon microbien (donc à l'échelle individuelle) à la mesure d'un trait. C'est le cas de Nguyen *et al.* (2016) qui ont attribué pour 9476 taxon fongiques (6254 au niveau du genre et 3221 au niveau de l'espèce) un ou plusieurs modes trophiques (saprophytes, symbiotique et pathogènes) sous forme d'une base de données appelée « FUNGuild » (voir chapitre « Matériel et méthodes »).

Après avoir fait cet état de l'art sur les traits de la faune et des micro-organismes, nous proposons de définir un trait fonctionnel (de la faune ou microbien) comme étant une caractéristique morphologique, physiologique, phénologique, comportementale ou génétique, qui, en tant que telle, n'apporte pas de bénéfice à l'organisme mais, qui exprime une ou des fonction(s) biologique(s) bénéfique(s) pour l'organisme. Par exemple, nous considérons la présence d'un gène codant une enzyme comme un trait alors que les activités enzymatiques sont des fonctions et non des traits.

III.1.3.4 Les indices de diversité fonctionnelle : une approche à l'échelle de la communauté

Le développement de l'approche par les fonctions des organismes dans leur milieu a conduit à la création de nombreux indices caractérisant la diversité fonctionnelle d'une communauté.

Les indices de diversité fonctionnelle peuvent être mesurés de la même façon que les indices de diversité taxonomique, c'est-à-dire par la richesse et l'équitabilité fonctionnelle. Ainsi la richesse fonctionnelle peut être mesurée grâce à l'indice de Shannon (H') qui prend en compte le nombre d'attributs et la répartition des valeurs des attributs au sein du trait ou de la préférence écologique étudiée. L'équitabilité de Pielou peut également être mesurée afin d'estimer la régularité de la distribution des attributs au sein du trait ou de la préférence écologique étudié. Cette approche est souvent utilisée en écologie microbienne pour estimer la diversité fonctionnelle des communautés selon les approches PRC (*e.g.* Banning *et al.*, 2012; Castillo-Monroy *et al.*, 2014; Nannipieri *et al.*, 2003) (voir chapitre « Matériel et méthodes »).

Les indices de diversité fonctionnelle peuvent être également issus d'analyses multivariées dont les traits et préférences écologiques sont répartis dans un espace à n dimensions. La richesse

fonctionnelle et l'équitabilité fonctionnelle sont ainsi des indices reflétant la structure fonctionnelle d'une communauté et ont été formalisées par Villéger *et al.* (2008) (Figure 1.4):

- **La richesse fonctionnelle** (FRic) correspond au volume à n dimension des différentes valeurs de traits de la communauté en entière. Sa valeur dépend de la richesse taxonomique et du nombre de fonctions mesurées.
- **L'équitabilité fonctionnelle** (FEve) représente la régularité de distribution des valeurs des traits de la communauté dans un volume à n dimension. Elle dépend du nombre de fonctions. Sa valeur sera élevée lorsque les valeurs des attributs sont régulièrement distribuées entre les traits.

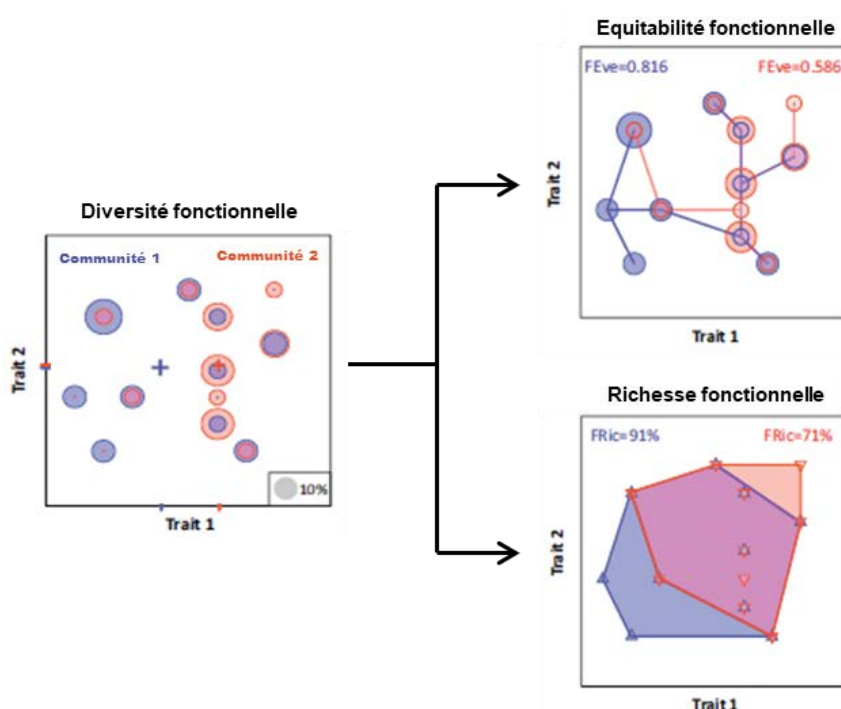


Figure 1.4 : Interprétation schématique de la diversité fonctionnelle à travers deux indices (d'après Villéger *et al.*, 2008). Les figures illustrent deux communautés différentes, de 12 taxons, réparties sur deux traits. L'abondance du taxon est proportionnelle à la surface du point.

Si la communauté scientifique tente de relever le défi de conceptualiser et mesurer la biodiversité, c'est que cette dernière présente des enjeux pour les gestionnaires, les politiques, les économistes, les urbanistes et agronomes, cherchant à améliorer la sauvegarde de la biodiversité. En effet, depuis le début des années 90, des recherches ont vu le jour pour estimer la valeur économique des services rendus par la biodiversité (Pimentel *et al.*, 1997). Ainsi, les fonctions assurées par cette biodiversité dans les sols sont estimées à 1500 milliards de dollars/an à l'échelle mondiale. Plus récemment, Jónsson et Davídsdóttir, (2016) estiment la contribution à l'échelle mondiale de la biodiversité des sols à 2100 milliards dollars/an.

Encadré 1.3 : Biodiversité et stabilité de l'écosystème

Une des hypothèses fréquentes sur le fonctionnement des écosystèmes est que leur stabilité est liée à une forte biodiversité taxonomique (Bukvareva, 2017; Cardinale *et al.*, 2012; Hodbod *et al.*, 2016; Loreau et Hector, 2001; Tilman *et al.*, 2014). La stabilité d'un écosystème désigne « la capacité d'un écosystème à maintenir ses propriétés (notamment biologiques) lors d'une perturbation » (Ramade, 2007). Ainsi, une forte biodiversité confère à l'écosystème une certaine élasticité qui lui permet d'absorber les perturbations et d'en compenser les effets. De nombreux travaux ont en effet montré l'effet d'une richesse spécifique élevée sur la stabilité de l'écosystème à travers l'étude de différentes fonctions comme la productivité primaire, la décomposition de la litière ou de la matière organique, la respiration, la dénitrification (la mésofaune (Crossley, 1992), les micro-organismes (Deng, 2012; Setälä et McLean, 2004; Tardy *et al.*, 2014); les végétaux (Tilman *et al.*, 2006), les lichens (Bowker *et al.*, 2010) et des communautés plus complexes, (Naeem *et al.*, 1994; Schwartz *et al.*, 2000)). Si la perturbation provoque la disparition de certaines espèces, il y a souvent une réserve d'espèces redondantes susceptibles d'assurer la fonction manquante : on parle alors de redondance fonctionnelle (Gobat *et al.*, 2010). Si la perturbation est trop forte, l'écosystème bascule à un état éloigné de l'état initial (voir partie II.1.). Ainsi, la résilience d'un écosystème désigne la capacité d'un écosystème à revenir à un état d'équilibre après une perturbation (Gobat *et al.*, 2010).

III.2 Les micro-organismes et la faune du sol

III.2.1 Généralités sur la biodiversité des sols

Le sol représente un des réservoirs de biodiversité les plus importants, représentant environ un quart de la biodiversité totale de la planète (Jeffery *et al.*, 2010). Par exemple, un gramme de sol peut contenir une centaine d'espèces, un trillion d'individus et une centaine de mètres d'hyphes fongiques (Schaefer et Schauer mann, 1990; Wardle *et al.*, 2004). Plusieurs groupes et une grande diversité d'organismes y vivent : insectes, mollusques, protozoaires, algues, bactéries, champignons, *etc.* Il est à noter également que la flore supérieure est considérée comme partie prenante dans la biocénose des sols de par sa partie racinaire, qui représente une biomasse importante et assure d'importantes fonctions dans le sol. Les organismes du sol sont généralement classés en quatre groupes selon la taille des individus (micro-organismes (ou microflore), microfaune, mésofaune et macrofaune), reflétant une mesure de la capacité des différents organismes à circuler dans les pores du sol (Figure 1.5).

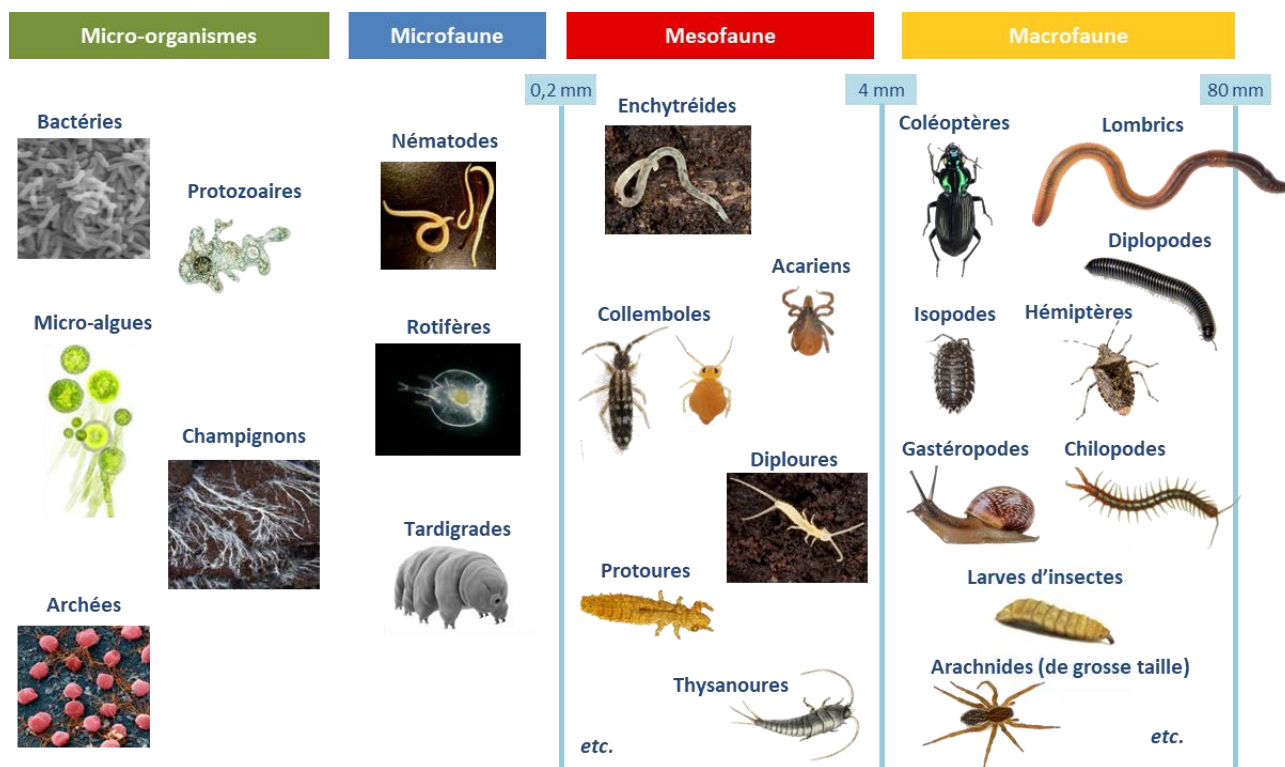


Figure 1.5 : Schéma des différents groupes de la biodiversité du sol classés par taille (modifié de Gobat *et al.*, 2010).

Les sols présentent un très haut niveau d'hétérogénéité spatiale et temporelle, et un nombre extrêmement grand d'habitats, qui contribuent à favoriser une biodiversité élevée (Bardgett, 2002). Le niveau d'abondance et de diversité biologique varie d'un sol à l'autre, selon de nombreux facteurs qui peuvent influencer plus ou moins directement les organismes du sol, dont la teneur en matière organique, la texture du sol, le pH et les pratiques de gestion du sol (Turbé *et al.*, 2010; De Vries *et al.*, 2012; Filho *et al.*, 2016; Aksoy *et al.*, 2017).

Dans les prochaines parties, les groupes des micro-organismes et de la faune du sol seront détaillés.

III.2.2 Les micro-organismes du sol

Dans le sol, les **micro-organismes** sont des organismes vivants extrêmement abondants et d'une grande diversité taxonomique et fonctionnelle. Les micro-organismes sont composés de bactéries, de champignons, de micro-algues, d'archées et de protistes (Bertrand *et al.*, 2011). Le fonctionnement biologique des sols est considérablement lié à l'activité microbienne. En effet, les micro-organismes jouent un rôle majeur dans le fonctionnement des cycles biogéochimiques, le recyclage des nutriments ou de polluants, la croissance des plantes (symbioses avec des végétaux), ou encore la structuration du sol. Ils contribuent ainsi aux services écosystémiques des

sols, tels que les services de support, de filtre (dépollution, gaz à effet de serre, *etc.*) et de production primaire. Ils jouent également un rôle important dans les services de régulation (*e.g.* régulation des maladies). Dans le sol, la communauté microbienne présente une capacité d'adaptation rapide aux variations de l'environnement, qu'elles soient d'ordre pédoclimatique, biologique ou anthropique. Deux principaux groupes de micro-organismes sont considérés dans ce travail de thèse : les bactéries et les champignons.

III.2.2.1 Les bactéries

Parmi les microorganismes du sol, les bactéries sont de loin les plus abondantes, qu'il s'agisse de leur biomasse ou de leur diversité (Buckley et Schmidt, 2002). Les bactéries sont des organismes unicellulaires possédant une grande variété de formes et de tailles, majoritairement inférieures à 2 μm . Il est communément estimé qu'environ 10^9 cellules bactériennes sont présentes dans un gramme de sol (Curtis *et al.*, 2002; Roesch *et al.*, 2007; Torsvik et Ovreas, 2002). Environ 2000 à 10000 espèces bactériennes par gramme de sol ont été quantifiées grâce à l'étude du métagénome¹⁵ (dans des sols contrastés au niveau physico-chimique et géographique (Roesch *et al.*, 2007)). L'étude métagénomique des sols montre que certains phylums bactériens prédominent (Janssen, 2006). Ainsi lors de l'analyse de différentes banques de séquences d'ADN bactérien (ADNr 16S) provenant de sols différents (prairies, forêts, sols arides, agricoles *etc.*), 40% en moyenne des séquences identifiées appartenaient aux *Proteobacteria*, 20% aux *Acidobacteria* et 13% aux *Actinobacteria*. Ces résultats ont également été retrouvés dans d'autres études (Roesch *et al.*, 2007; Delmont *et al.*, 2012).

L'abondance des communautés bactériennes du sol peut être estimée par la quantification de l'ADN extrait d'un échantillon de sol, ce qui permet de s'affranchir de la mise en culture des bactéries, les bactéries cultivables ne représentant que 1% environ de la communauté totale. Dans cet extrait, il est possible de quantifier spécifiquement le nombre de bactéries en ciblant un gène en particulier (gène codant l'ARNr 16S). Pour cela, le gène est amplifié et détecté pour être quantifié. La méthode est détaillée dans la chapitre « Matériel et méthodes ». La diversité « taxonomique » des bactéries utilise également l'ADN extrait d'un échantillon de sol en utilisant des techniques d'empreinte moléculaire (du type gel d'électrophorèse sur gradient dénaturant par exemple ; voir chapitre « Matériel et méthodes ») ou de séquençage (du type Illumina par exemple ; voir chapitre « Matériel et méthodes »).

Les bactéries sont essentielles au fonctionnement biologique du sol car elles jouent un rôle clé dans le recyclage des nutriments, la production primaire (par la formation de symbioses), ou encore dans la structuration du sol. Elles contribuent également à la régulation des maladies, et à

¹⁵ Métagénome : Ensemble des gènes contenus dans un biotope donné, contenant toutes les espèces en mélange.

dépollution des sols contaminés. Ainsi, les bactéries interviennent dans la **minéralisation** de la matière organique, peuvent être **lithotrophes ou chimioautotrophes** (utilisent une substance minérale comme donneur d'électrons lors de leur métabolisme et non une substance organique), être **symbiotique** (ou mutualisme) avec des végétaux et peuvent être également **pathogènes**.

C'est avant tout par leurs fonctions biogéochimiques, telles que la minéralisation de la matière organique, l'oxydation et la réduction de composés inorganiques, la solubilisation ou la précipitation de minéraux et la transformation de certains composés organiques, que les bactéries jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement des sols (Gobat *et al.*, 2010). Elles sont à la base de la régulation des cycles biogéochimiques des sols (du carbone, de l'azote, du phosphore et du soufre par exemple). En effet, grâce à de nombreuses enzymes qu'elles secrètent, les bactéries sont capables de dégrader (au moins partiellement) des substances insolubles (par exemple la cellulose, la lignine et la chitine). Elles sont capables de réduire les sulfates (bactéries sulfato-réductrices), d'oxyder le soufre (*Thiobacillus* par exemple), de fixer l'azote atmosphérique (diazotrophie seule ou en symbiose avec des plantes), de produire des nitrates (bactéries nitrifiantes), de rendre disponible le phosphore (par la phosphatase alcaline par exemple) (Beier et Bertilsson, 2013; Gobat *et al.*, 2010; Paul, 2014) *etc.*

De plus certaines bactéries, telles que les PGPR, ont la capacité de développer des symbioses avec les plantes, ce qui permet d'augmenter la mise à disposition d'éléments nutritifs pour la croissance du végétal (Barrios, 2007). Les bactéries peuvent également favoriser la dépollution des sols contaminés par des ETM (Ahemad, 2014) ou des composés organiques tels que les HAP (Cébron *et al.*, 2008; Habe et Omori, 2003). Par exemple, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium spp.* et *Rhodococcus spp.* sont capables de dégrader les HAP par cométabolisme (Haritash et Kaushik, 2009).

III.2.2.2 Les champignons

Les champignons sont classés en deux groupes : les levures qui sont unicellulaires et les champignons pluricellulaires formant des hyphes. Pour donner un ordre d'idée sur l'abondance des champignons pluricellulaires, un mètre carré de sol de prairie contient plusieurs kilomètres d'hyphes. Ces hyphes forment un véritable réseau explorant le sol sur de longues distances. Les champignons sont classés en groupes taxonomiques : les chytridiomycètes, les mucoromycètes (anciennement zygomycètes), les glomérormycètes, les basidiomycètes, les ascomycètes sont les principaux groupes (Rogerson et Webster, 1981).

L'étude de Tedersoo *et al.* (2014) a montré que, pour tous les types d'écosystèmes confondus (forêts boréales, tempérées, prairies, savanes, tundra *etc.*), les phylla basidiomycètes, ascomycètes et mucoromycètes représentent respectivement 56%, 31% et 10% des communautés. Dans les sols forestiers en milieu tempéré, les basidiomycètes, les ascomycètes et

les mucoromycètes représentent respectivement environ 45%, 15% et 8% de la communauté, le reste étant des OTU non affiliés (Buée *et al.*, 2009). Dans un sol de prairie, De Castro *et al.* (2008) ont mesuré des proportions très élevées en ascomycètes (90%) et des proportions en basidiomycètes et en mucoromycètes beaucoup plus faibles (environ 2 et 3% respectivement). Comme pour les communautés bactériennes, l'abondance des communautés fongiques du sol peut être estimée par la quantification de l'ADN extrait d'un échantillon de sol. La quantification du nombre de cellules fongiques peut être réalisée en ciblant un gène en particulier (gène codant l'ARNr 18S ou les ITS¹⁶), en l'amplifiant et le détectant. La méthode est détaillée dans le chapitre 2 : « Matériel et méthodes ». La diversité « taxonomique » des champignons utilise également l'ADN extrait d'un échantillon de sol en utilisant des techniques d'empreinte moléculaire ou de séquençage (voir chapitre « Matériel et méthodes »).

Les champignons peuvent également être classés selon leur mode trophique dans le sol : **saprophyte, mycorhizien, endophyte et pathogène** (Sénéquier-Crozet et Canard, 2016; Toju *et al.*, 2016). Comme Pey *et al.* (2014), considèrent que le régime alimentaire de la faune est un trait, nous considérons également le mode trophique comme un trait comportementale.

- **Les champignons saprophytes**

Les champignons saprophytes sont des organismes capables de se nourrir de matières organiques mortes, plus ou moins déjà décomposées ou dégradées par d'autres organismes (substances humiques et composés biochimiques tels que les acides organiques, sucres, lipides et polysaccharides (Gary *et al.*, 1994)) dont ils absorbent les éléments nutritifs prédigérés grâce à l'excrétion d'enzymes extracellulaires. Pour tous types d'écosystèmes confondus (forêts boréales, tempérées, prairies, savanes, tundra *etc.*), la proportion en saprophytes est d'environ 44%, avec une faible variation entre les différents types d'écosystème (Tedersoo *et al.*, 2014). Là également, une classification selon leur fonction est réalisée : les pourritures blanches, brunes et molles (Schwarze *et al.*, 2000). Ces appellations sont directement liées à la décomposition des litières des plantes. Bien que ces groupes fassent référence à des caractéristiques visuelles de la dégradation de la lignine, il est apparu que celles-ci correspondaient à des différences de capacité de dégradation de la cellulose et l'hémicellulose, éléments constitutifs des plantes et donc de la litière (Worrall *et al.*, 1997).

Les agents de pourritures molles appartiennent principalement à la famille des ascomycètes et deutéromycètes. Ils dégradent la cellulose, les hémicelluloses et partiellement la lignine (Eriksson *et al.*, 1990). Les agents de pourritures brunes sont majoritairement des basidiomycètes et quelques ascomycètes. Ils dégradent la cellulose et les hémicelluloses et modifient partiellement

¹⁶ ITS : Internal Transcribed Spacer

la lignine (Schwarze *et al.*, 2000; Yelle *et al.*, 2008). Les agents de pourritures blanches appartiennent à la famille des basidiomycètes et sont les seuls champignons à posséder la capacité à dégrader la totalité des constituants des végétaux, notamment la lignine (Del Río *et al.*, 2002). Les champignons de pourritures blanches secrètent des enzymes lignolytiques ayant une faible spécificité du substrat. Par conséquent, elles dégradent aussi les HAP (Boonchan *et al.*, 2000).

- **Les champignons mycorhiziens**

Les champignons mycorhiziens sont des champignons qui forment des associations symbiotiques avec les racines des plantes. Cette association est extrêmement répandue et concerne 80 à 90% des espèces végétales (Meier *et al.*, 2012). Dans cette relation à bénéfice réciproque, le champignon reçoit de la plante des sucres ainsi que des vitamines, nécessaires à sa croissance. Il absorbe des nutriments, dont le phosphore, qu'il transfère en retour à la plante (Smith et Read, 2008) et accroît ainsi considérablement le volume de sol exploré par la plante. Ces champignons sont classés en deux grands groupes principaux : les champignons endomycorhiziens et les champignons ectomycorhiziens.

- Les **champignons ectomycorhiziens** se caractérisent par la formation d'un réseau d'hyphes à la surface racinaire des plantes colonisées (réseau de Hartig), formant un manchon périphérique servant de matrice d'échanges entre la plante et le champignon. Le champignon s'insère entre les cellules corticales et reste exclusivement extracellulaire. L'hôte végétal est surtout du type arbustif et arboré. La majorité des ectomycorhizes appartient au groupe des basidiomycètes (95% selon Narayanasamy, 2011).

- Les **champignons endomycorhiziens** se caractérisent par la formation de structures intracellulaires. En effet, les hyphes entrent à l'intérieur des cellules racinaires pour réaliser les échanges avec la plante. Il existe 3 types d'endomycorhizes : les endomycorhizes ericoïdes, les endomycorhizes d'orchidées et les endomycorhizes à arbuscules.

Les champignons mycorhiziens à arbuscules (MA) ont des hyphes qui forment des arbuscules dans les cellules du cortex racinaire, permettant les échanges directs entre la racine et le champignon. Des hyphes extraradiculaires se développent aussi sur plusieurs centimètres à l'extérieur de la racine, explorant le sol alentour, et pouvant porter une multitude de spores (Figure 1.6).

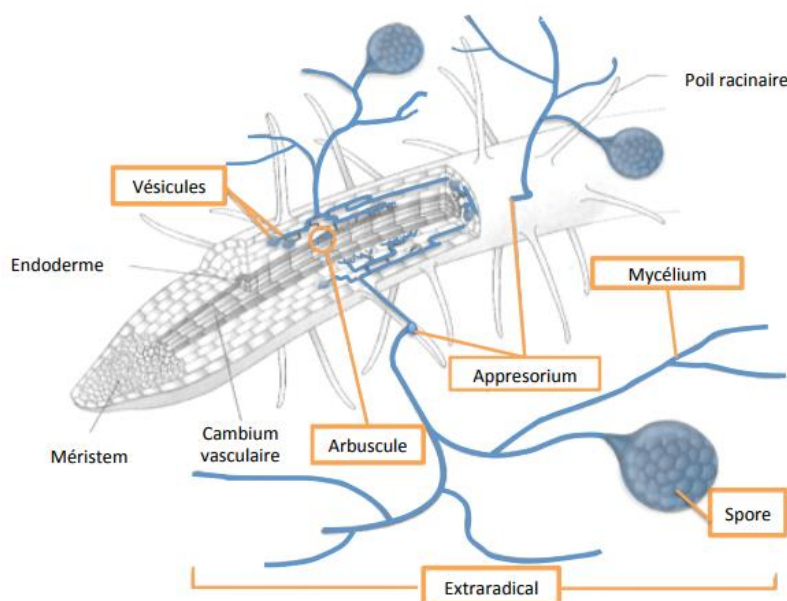


Figure 1.6 : Représentation schématique d'une coupe de racine présentant les différentes structures endomycorhiziennes (d'après Fortin *et al.*, 2016).

Ces champignons MA, appartenant exclusivement au groupe des glomeromycètes (Schüssler et Walker, 2010), sont des symbiotrophes obligatoires : sans l'interaction avec la plante hôte leur fournissant des éléments carbonés, ils ne peuvent accomplir leur cycle de développement (Tisserant *et al.*, 2012). La plupart des champignons MA ne semblent pas avoir de spécificité d'hôte car on peut trouver chez une même plante plusieurs espèces de champignons qui la colonisent, et cela parfois au sein d'une même racine (Helgason *et al.*, 2002; Redecker, 2002; Öpik *et al.*, 2008). La grande majorité des espèces de plantes terrestres (environ 80%) sont capables d'effectuer une symbiose avec les champignons MA (Malloch *et al.*, 1980; Jakucs, 1999). Pour la plante, le principal avantage est une meilleure nutrition hydrique et minérale, en particulier en phosphate (Smith et Read, 2008). Les plantes mycorhizées reçoivent du phosphate de la part du champignon, se traduisant le plus souvent par une augmentation de la biomasse par rapport à des plantes non colonisées (Karandashov et Bucher, 2005; Sharifi *et al.*, 2007; Sheng *et al.*, 2008). Bien que la symbiose MA améliore le prélèvement des nutriments limitants et la biomasse des plantes, l'efficacité de cette symbiose est variable selon les conditions du sol (matière organique, pH, CEC, texture du sol, teneur en phosphore *etc.*) et selon l'association plante-champignon (Jakobsen *et al.*, 1992). En explorant un plus vaste volume de sol que les racines, le mycélium des champignons MA permet de suppléer la nutrition de la plante en éléments limitants (Cui et Caldwell, 1996; Jakobsen *et al.*, 1992). La colonisation du champignon MA est plus efficace lorsque le sol présente une faible fertilité, comme les sols fortement anthropisés (Turnau *et al.*, 2001; Dodd *et al.*, 2002; Jeffries *et al.*, 2003). C'est pourquoi de nombreux champignons MA ont été retrouvés dans ce type

de sol (Leyval *et al.*, 1995; Del Val *et al.*, 1999). Ces isolats de champignons MA provenant de sites contaminés, tolérants aux ETM (Göhre et Paszkowski, 2006; Leyval *et al.*, 1995) améliorent la résistance de la plante à ces contaminants (Leyval *et al.*, 1997; Hildebrandt *et al.*, 2007; Amir *et al.*, 2013) en favorisant leur croissance (Janoušková *et al.*, 2005; Hildebrandt *et al.*, 2007). Cet effet positif du champignon sur la croissance de la plante en milieu contaminé est notamment lié à une diminution de la concentration en métaux dans les parties aériennes des végétaux (Heggo *et al.*, 1990; Lee et George, 2005). En effet, les champignons MA sont capables de transporter également des métaux tels que Zn, Cd et Cu (Hutchinson *et al.*, 2004; Joner et Leyval, 1997; Loth et Hoefner, 1995) du sol au système racinaire et de les séquestrer dans les racines (Audet et Charest, 2006; Kapoor et Bhatnagar, 2007), réduisant le passage dans les parties aériennes.

- **Les champignons endophytes (racinaires)**

L'endophytisme est un mode de vie pouvant être adopté par certains champignons, se caractérisant par la colonisation des structures internes d'une plante de manière asymptomatique. En effet, ces champignons hétérotrophes prélèvent des nutriments de l'hôte sans que ce dernier ne présente de signes de maladie. Les champignons endophytes racinaires demeurent intégralement dans les tissus racinaires, à l'inverse des champignons mycorhiziens qui colonisent les plantes tout en se développant dans la rhizosphère¹⁷. Les champignons endophytes sont majoritairement issus des ascomycètes et basidiomycètes (Arnold et Lutzoni, 2007; Selosse et Roy, 2009). Ce groupe comprend différents types d'organismes dont les trois plus connus sont les DSE (*Dark Septate Endophytes*), les Sebacinales et les *Trichoderma* (Chadha *et al.*, 2014). Comme les champignons mycorhiziens, les champignons endophytes peuvent favoriser la croissance de la plante hôte (Pal *et al.* 2001) et sa résistance aux stress abiotiques (Rodriguez *et al.*, 2009), mais les résultats varient selon les études. De nombreux et divers DSE sont associés aux racines de nombreuses plantes retrouvées sur des sites contaminés aux métaux lourds (Ruotsalainen *et al.*, 2007; Regvar *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2013). Berthelot *et al.* (2016) ont isolé des souches de DSE de sites contaminés aux métaux lourds et ont montré leur capacité à coloniser différentes plantes, à promouvoir la croissance de ces plantes et à augmenter leur tolérance aux métaux, suggérant leur utilisation potentielle dans des stratégies de réhabilitation des sites délaissés.

¹⁷ Rhizosphère : volume de sol impacté par l'activité racinaire (Hiltner 1904; Darrah 1993).

III.2.3 La faune du sol

La faune du sol comprend l'ensemble des animaux ayant au moins une partie de leur cycle biologique dans le sol. Cette faune, extrêmement diversifiée, représente près d'un quart (23%) de la diversité totale des organismes vivants ayant été décrite à ce jour (Decaëns *et al.*, 2006; Lavelle *et al.*, 2006). Dans les sols bruns des régions tempérées, elle se localise principalement dans les 10 à 20 premiers centimètres du sol et ses annexes (litière, bois mort *etc.*) (Bachelier, 1978). La faune du sol peut être classée d'après la taille des organismes en quatre groupes (Bachelier, 1978).

- La **microfaune** dont les individus sont généralement plus petits que 0,2 mm et peuvent vivre dans les capillaires du sol. Les protozoaires et les nématodes constituent l'essentiel de la microfaune. Les rotifères et les tardigrades font également partie de la microfaune mais sont moins abondants. Les protozoaires ont, selon les sols, une densité de 100 à 1000 millions d'individus au mètre carré. La nutrition des protozoaires est très diversifiée étant donné l'importance de ce groupe, mais la plupart des protozoaires pouvant ingérer des particules se nourrissent de bactéries (Bachelier, 1971). Les nématodes sont des organismes vivant dans le film d'eau entourant les particules de sol (Orgiazzi *et al.*, 2016). Environ 30000 espèces de nématodes sont connues mais ce nombre ne représenterait qu'environ 5% du nombre total d'espèces existantes. Ils sont classés en cinq groupes trophiques : les bactérivores, les fongivores, les omnivores, les phytoparasites et les prédateurs (Orgiazzi *et al.*, 2016). Ils jouent un rôle clé dans la minéralisation et la décomposition et également dans la régulation des communautés microbiennes. La microfaune et plus précisément les nématodes peuvent être extraits par entonnoir de Baermann ou par l'élutriation d'Oostenbrink.

- La **mésafaune** (ou micro-arthropodes ou encore méso-invertébrés) est constituée d'animaux ayant une taille entre 0,2 à 4 mm environ. Les deux groupes majoritaires de la mésafaune sont les **collembolés** et les acariens, formant ainsi l'essentiel de cette mésafaune. Les protoures, diploures, thysanoures, les enchytréides, et les myriapodes symphiles, font également partie de la mésafaune mais leur abondance est en général plus faible (Figure 1.7).

Les collembolés sont probablement le groupe d'hexapode le plus abondant sur Terre (avec 200000 individus.m⁻² dans des sols bruns non cultivés des régions tempérées (Bachelier, 1971)) avec environ 8000 espèces actuellement connues dans le monde, dont plus de 2000 en Europe (Deharveng, 2004). On les retrouve dans deux écosystèmes majoritaires : le sol et les litières (Lavelle et Spain, 2001). Les collembolés sont essentiellement décomposeurs, se nourrissant d'hyphes mycéliens et de matières organiques. Ainsi, ils jouent un rôle prépondérant dans les processus de décomposition de la litière par microfragmentation et brassage de la matière organique (Filser *et al.*, 2002; Cortet *et al.*, 2003). La majorité des collembolés est fongivore mais certaines espèces sont phytophages, coprophages, pollinivores, carnivores ou encore phytophage

(Hopkin, 1997). Comme les nématodes, les collemboles interviennent dans la régulation des populations microbiennes. Moins étudiés que les nématodes dans les interactions biotiques avec la microflore dans la rhizosphère, les collemboles méritent d'être davantage pris en compte (voir partie V.3).

En fonction de l'habitat exploité, les collemboles ont développé des adaptations morphologiques que l'on peut regrouper en trois modes de vie (Gisin, 1943). Tout d'abord, certaines espèces vivantes à la surface sont dites epi-édaphiques. Ces espèces sont généralement pigmentées, avec de longues pattes, possédant des écailles ou des soies, des ocelles (yeux) et une furca¹⁸. D'autres espèces au contraire vivent en profondeur, dites eu-édaphiques, et sont généralement apigmentées, sans furca, avec des pattes courtes, possédant peu ou pas d'ocelles. D'autres espèces sont dans une catégorie intermédiaire, nommée héli-édaphique. La majorité des espèces peuvent se reproduire par voie sexuée mais de nombreuses espèces sont également parthénogénétiques. Leur durée de vie est d'environ 1 à 2 ans.

Avec plus de 48000 espèces déjà décrites, les acariens colonisent de nombreux habitats dont certains sont riches en matières organiques comme la tourbe, les bois en décompositions, les litières *etc.* Même si la taxonomie des acariens est en pleine évolution, on distingue généralement deux ordres : les acariformes et les parasitiformes (Dabert *et al.*, 2010). Certains peuvent être prédateurs (les parasitiformes principalement) et d'autres peuvent être des parasites (de plantes ou d'animaux) ou encore être décomposeurs (les acariformes principalement) (Schneider *et al.*, 2004). Certaines espèces transportent des bactéries et des champignons à leur surface, favorisant leur dissémination (Maraun *et al.*, 1998). Comme pour les collemboles, la plupart des acariens contribuent à fragmenter la matière organique en produisant des boulettes fécales et de façon indirecte en régulant les communautés microbiennes (Jeffery *et al.*, 2010).

La mésofaune peut être extraite à partir du sol ou de la litière par la méthode Berlèze. Elle peut également être échantillonnée par une carotte de sol ; les animaux sont ensuite extraits par un extracteur à haut gradient de températures, de type MacFadyen (voir chapitre « Matériel et méthodes »).

¹⁸ Furca : appendice abdominal permettant au collembole de sauter

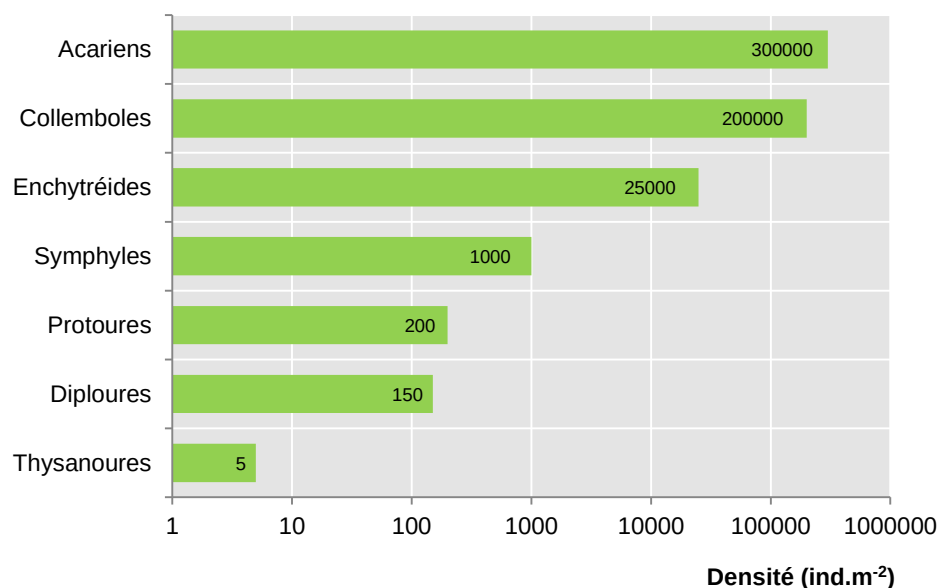


Figure 1.7 : Densité de la mésofaune selon les principaux groupes, dans des sols bruns non cultivés des régions tempérées (Bachelier, 1971).

- La **macrofaune** comprend des animaux d'environ 4 à 80 mm. Il s'agit de vers de terre, d'insectes larves et adultes (hyménoptères, coléoptères et diptères (larves) pour la majorité), de myriapodes, d'araignées, de mollusques, de crustacés. Ces animaux peuvent être groupés selon leur groupe trophique ; les prédateurs, les décomposeurs, les géophages et les phytophages (Hedde *et al.*, 2013; Henneron *et al.*, 2014). Les prédateurs, comme les arachnides, les chilopodes, certains coléoptères, interviennent dans la régulation des populations. Les décomposeurs, tels que les lombrics, les diplopodes, certains coléoptères, les larves de diptères *etc.*, interviennent dans le recyclage de la matière organique. Les géophages sont principalement composés de lombric ayant un mode de vie du type endogé¹⁹. Les phytophages, comme certains coléoptères, hémiptères et gastéropodes, se nourrissent de végétaux vivants. Un autre groupe fonctionnel, qui n'est pas lié à un groupe trophique, est également souvent employé ; il s'agit des ingénieurs du sol (Ruiz-Camacho, 2004). Les ingénieurs du sol sont principalement représentés par les lombrics (endogés et anéciques) et les fourmis.

Pour échantillonner la macrofaune, plusieurs techniques sont possibles. Les deux méthodes les plus courantes sont le tri manuel d'un bloc de sol et le piège Barber (voir chapitre « Matériel et

¹⁹ Endogés : vers géophage (se nourrissant de la matière organique contenue dans le sol) vivant généralement dans les premiers centimètres de sol où ils construisent un réseau de galeries horizontal. Anéciques : vers phytosaprophage (se nourrissent de matière organique principalement en surface), vivant dans des galeries, généralement verticales et permanentes (jusqu'à trois 3 m de profondeur). Epigés : vers vivant dans la litière de surface, se nourrissent des matières organiques en décomposition dans cette litière et ne creusent généralement pas de galeries (Bouche, 1972).

méthodes »). Toutefois, d'autres méthodes existent (la chasse à vue par exemple) et peuvent dépendre de l'organisme étudié (la méthode du substrat artificiel pour les gastéropodes par exemple).

- La **mégafaune** comprend, quant à elle, les individus mesurant plus de 80 mm. Il s'agit essentiellement de micro-mammifères, de reptiles et d'amphibiens, qui vivent à la surface du sol. Ces organismes ne seront pas considérés dans ce travail de thèse.

De nombreuses études se sont intéressées à la biodiversité dans les sols par sa structure taxonomique, et de plus en plus, la diversité fonctionnelle est également prise en compte. L'approche fonctionnelle par les traits et préférences écologiques, le plus souvent utilisée pour les végétaux, s'est développée aussi pour la faune du sol et commence à l'être pour les micro-organismes. Mais peu d'études intègrent ces différentes dimensions de la biodiversité ainsi que les différentes composantes de la biodiversité des sols, pour comprendre le fonctionnement biologique des sols.

IV LA BIODIVERSITE

DANS LES SOLS ANTHROPISES

La crise de la biodiversité est imputée aux activités humaines, telle que l'intensification de l'agriculture, les changements d'usage, la contamination, la baisse de la teneur en matière organique. Elle se traduit généralement par une réduction de la biodiversité et de l'abondance des individus (Gardi *et al.*, 2009; Römcke *et al.*, 2016). Les études montrent que les espèces ne sont pas affectées de façon aléatoire par ces pressions humaines. En effet, de nombreux auteurs montrent que les espèces les plus sensibles sont également les plus spécialistes d'une fonction (Clavel *et al.*, 2011). Ces espèces sont remplacées par des espèces plus généralistes, tolérantes aux perturbations et susceptibles d'exploiter une plus grande gamme de ressources. Différents travaux ont montré ces effets chez les invertébrés du sol, liés au développement de l'agriculture intensive notamment (Medan *et al.*, 2011). Les invertébrés du sol ne sont pas les seuls organismes affectés par les pressions humaines puisque des cas similaires ont été retrouvés chez les micro-organismes (Singh *et al.*, 2014).

Si l'on s'intéresse à un des principaux effets de l'anthropisation dans les sols, *i.e.* la contamination, le nombre de publications est très différent selon le type de pollution ou du compartiment biotique considéré (Figure 1.8). Une analyse de la base de données de références bibliographiques *Web of Science* montre que les effets des métaux sur les organismes du sol ont été largement plus étudiés que ceux des HAP. Au niveau des compartiments biotiques, les bactéries et les champignons sont les organismes les plus étudiés, suivis des collemboles puis de la macrofaune²⁰.

²⁰ Le terme « *macrofauna* » a été employé ici afin de prendre en compte un maximum d'organismes de ce groupe. En recherchant « *earthworms soil metal* » seulement 12 publications sont recensées, pour « *beetle soil metal* », seulement 3 publications sont recensées.

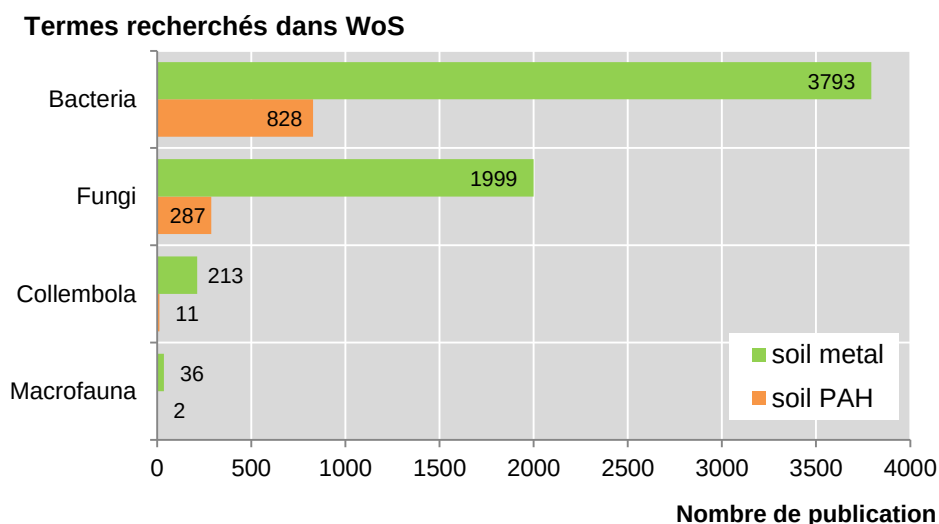


Figure 1.8 : Analyse bibliométrique de la littérature de janvier 1950 à mai 2017 comprenant les termes « *bacteria* », « *fungi* », « *collembola* » ou « *macrofauna* » suivi de « *soil metal* » ou de « *soil PAH* » dans Web of Science (WoS).

De nombreuses interrogations sur les effets de la contamination (ETM et HAP) et des usages des sols sur les deux compartiments biotiques étudiés (micro-organismes et faune du sol) se posent encore aujourd'hui. Dans cette partie de l'analyse bibliographique, les études de terrain sont privilégiées, en ne prenant en compte que les sols des milieux tempérés.

IV.1 Effets de la contamination et des usages des sols sur les bactéries et les champignons

Pour les micro-organismes, la littérature est extrêmement dense et il est évident qu'un état de l'art exhaustif est difficilement réalisable. De ce fait, seules quelques études sont présentées dans cette partie. Il s'agit d'une synthèse bibliographique des effets *in situ* des contaminants, *i.e.* des ETM puis des hydrocarbures, puis des usages des sols sur la microflore (bactéries et champignons).

IV.1.1 Les effets des contaminations du sol sur la microflore

Les ETM étant les contaminants les plus étudiés, notamment en relation avec la microflore, les effets des ETM sur la biomasse et la diversité microbienne, puis sur les activités microbiennes ETM seront développés.

• Les effets des ETM sur la biomasse et la diversité microbienne

La contamination métallique dans les sols a un effet négatif sur la biomasse microbienne et la littérature ne manque pas à ce sujet (*e.g.* Ekelund *et al.*, 2003; Giller *et al.*, 2009; Kandeler *et al.*, 1996; Kuperman et Carreiro, 1997; Smit et Van Gestel, 1998). Les ETM peuvent en effet influencer (en fonction de leur concentration et leur biodisponibilité ; voir partie I.2) les populations microbiennes en perturbant leur croissance, leur morphologie et leurs activités biochimiques, causant une diminution de la biomasse et de la diversité microbienne (Deng *et al.*, 2015; Roane et Pepper, 1999). Plusieurs études se sont intéressées aux effets des métaux sur la diversité taxonomique des communautés microbiennes (Hirsch *et al.*, 1993; Sandaa *et al.*, 2001; Moffett *et al.*, 2003; Hinojosa *et al.*, 2005; Chodak *et al.*, 2013). Elles ont montré que les bactéries et les champignons, y compris les champignons mycorrhiziens, isolés à partir de sols pollués sont plus tolérants à une contamination par les ETM que des micro-organismes originaires de sols non pollués (Weissenhorn *et al.*, 1993; Mertens *et al.*, 2006). En effet, la présence d'ETM entraîne la disparition des populations les plus sensibles et l'adaptation des populations les plus résistantes. Ainsi, les équilibres peuvent basculer et les dominances s'inverser en quelques mois (Díaz-Raviña et Bååth, 1996; Rasmussen et Sorensen, 2001). Par exemple, les genres *Nitrososphaera*, *Solibacter*, *Acidobacter* et *Nitrospira* ont été retrouvés dans des sites de recyclage de déchets électroniques (Wu *et al.*, 2017) et sont considérés comme résistants à la toxicité des ETM (*e.g.* Cd, Cu et Pb).

Dans un contexte de sols contaminés, de nombreux auteurs soulignent l'importance du pH dans la structure des communautés microbiennes avec de fortes corrélations entre la diversité phylogénétique et le pH du sol (*e.g.* Chodak *et al.*, 2013; Lauber *et al.*, 2009). Ainsi, les sols aux pH élevés favorisent les *Chloroflexi*, les *Gemmatimonadetes*, les *Verrucomicrobia*, les *Delta-proteobacteria* et *Firmicutes* (Lauber *et al.*, 2009). Ces modifications de structure des communautés causées par les variations de pH ne sont pas forcément dues au pH lui-même, mais à son effet sur la disponibilité des éléments métalliques. En effet, le pH du sol agit sur les propriétés de rétention des métaux à la surface des solides et également sur la solubilité des précipités et la stabilité des complexes en solutions (Alloway, 2013). Ainsi, pour Cd, Cu, Ni, Pb et Zn, une diminution du pH du sol se traduira généralement par une augmentation de la biodisponibilité et donc du potentiel toxique du sol (Ge *et al.*, 2000).

• Les effets des ETM sur les activités microbiennes

Les activités microbiennes sont également impactées par les ETM. Par exemple, dans les sites miniers riches en Cu, Pb et Zn, une diminution des activités de l'arylsulfatase, leucine aminopeptidase, β -glucosidase et la chitinase et une augmentation de la phosphatase alcaline ont été observées (Wahsha *et al.*, 2017). Kandeler *et al.* (1996) constatent également en plus d'une diminution importante de la biomasse microbienne en présence de métaux (Zn, Cu, Ni, Cd, V) sur

différents types de sols, une inhibition de la respiration microbienne et de nombreuses activités enzymatiques (la deshydrogénase, la xylanase, la cellulase, la protéase, la désaminase, l'uréase, la nitrite réductase, la phospholipase et l'arylsulfatase). Bien que la sensibilité des activités vis-à-vis des métaux dépende du type d'enzymes (Renella *et al.*, 2005), de la concentration et de la biodisponibilité des métaux, la plupart des micro-organismes subissent une réduction de leur activité, pouvant provoquer des répercussions néfastes significatives sur l'ensemble de l'écosystème, avec une réduction de la décomposition et une perturbation des cycles des éléments (Kelly *et al.*, 1999).

De même, la richesse fonctionnelle des communautés est affectée par la présence des ETM dans les sols. C'est ce qu'ont montré Boshoff *et al.* (2014), le long d'un gradient de contamination métallique (As, Cu et Pb) *in situ* sur la fonction de minéralisation. En ce qui concerne les champignons mycorhiziens, de nombreuses études montrent leur présence sur des sites pollués par des ETM (Del Val *et al.*, 1999; Gaur et Adholeya, 2004; Khan *et al.*, 2000; Leyval *et al.*, 1995). Par rapport à des sites non contaminés, une diminution de la diversité et une dominance des espèces du genre *Funneliformis* (anciennement *Glomus*) dans les zones les plus contaminées est généralement observée (Bama et Ramakrishnan, 2010; Del Val *et al.*, 1999; Hassan *et al.*, 2011; Long *et al.*, 2010; Whitfield *et al.*, 2004; Zarei *et al.*, 2010). *Funneliformis mosseae* a été identifiée comme une espèce présente dans de très nombreux sites contaminés par des ETM (Weissenhorn *et al.*, 1993; Turnau *et al.*, 2001; Vallino *et al.*, 2006; Zarei *et al.*, 2010) suivi de *Rhizophagus irregularis* (anciennement *Glomus intraradices*) et du genre *Acaulospora* (Ortega-Larrocea *et al.*, 2001). *Funneliformis mosseae* est une espèce ayant une large gamme de distribution et tolère des conditions environnementales variables (Öpik *et al.*, 2006). Cette espèce est typique des stades précoces de colonisation après une perturbation du milieu (Sýkorová *et al.*, 2007), incluant les contaminations par des hydrocarbures (Tobergte et Curtis, 2013) et des ETM (Weissenhorn *et al.*, 1995; Ortega-Larrocea *et al.*, 2010; Zarei *et al.*, 2010; Hassan *et al.*, 2011). Alguacil *et al.* (2011) montrent que dans un sol contaminé, la diversité taxonomique des champignons mycorhiziens à arbuscules est influencée davantage par la capacité d'adaptation de la plante à la contamination que par les paramètres physico-chimiques du sol. Il trouve ainsi une plus grande diversité fongique associée à des espèces de plantes métalrophytes. De façon générale, les champignons mycorhiziens semblent mieux coloniser les milieux contaminés par rapport aux champignons non mycorhiziens, suggérant une tolérance de ces champignons symbiotiques à la contamination (Leyval *et al.*, 1997).

- **Les effets des hydrocarbures sur les micro-organismes**

Dans des sols contaminés par des hydrocarbures, plusieurs auteurs ont observé un enrichissement en Archées, *Gamma-proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* et en *Chloroflexi*. Ces auteurs ont également détecté des OTU strictement anaérobies, telles qu'*Anaerolineae*, *Clostridia* et *Thermotogae*, dont l'abondance augmentait avec la pollution (Cébron *et al.*, 2009; Sutton *et al.*, 2013; Sawulski *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2014; Abed *et al.*, 2015). Des résultats similaires ont été observés lors de l'étude de l'impact à long terme d'une pollution chronique, mettant en évidence une diminution de la diversité et des modifications de la structure des communautés, révélatrice de la capacité d'adaptation de certains taxa (Sutton *et al.*, 2013). Par exemple, dans un sol historiquement contaminé par la créosote, les zones les plus concentrées en HAP contenaient davantage de bactéries appartenant aux *Proteobacteria* contrairement aux *Actinobacteria*, TM7 et planctomycètes (Mukherjee *et al.*, 2014).

En ce qui concerne les champignons, il a été montré que la diversité et la structure des communautés fongiques étaient plus fortement impactées par la contamination en HAP que celle des communautés bactériennes (Bell *et al.*, 2014). Certains genres fongiques (dont *Fusarium*, *Cladosporium*, *Mucor* et *Penicillium*) ont été retrouvés comme dominants dans des milieux fortement contaminés par des HAP (Salvo *et al.*, 2005). Ces résultats suggèrent que la pression de sélection liée à la pollution induit une diminution de la diversité fongique en favorisant la dominance de quelques espèces capables de résister à la pollution, et de la dégrader. Ainsi, Obire et Anyanwu, (2009) ont observé l'augmentation du nombre de champignons cultivables capables d'utiliser le pétrole comme ressource. Cette augmentation était d'autant plus marquée que la contamination était importante. Ces auteurs ont pu identifier 14 genres différents parmi les souches dégradant le pétrole, appartenant toutes aux ordres Zygomycètes et Deutéromycètes.

- **Les effets des multi-contaminations sur les micro-organismes**

Dans des sols historiquement multi-contaminés (HAP et ETM), les communautés sont également affectées, tant au niveau structurel que fonctionnel (Thavamani *et al.*, 2012). Dans ces sols, des taxa ont été retrouvés comme étant dominants par rapport à d'autres types de sols. Bourceret *et al.* (2016) ont montré par exemple que les *Proteobacteria*, les *Actinobacteria* et les *Bacteroidetes* (phylums bactériens) ainsi que des ascomycètes (phylum fongique) sont dominants dans un sol de cokerie historiquement contaminé à la fois par des ETM et des HAP. De plus, ces auteurs ont montré que la structure taxonomique des communautés bactériennes dans ces sols semble plus particulière, comparée à des sols non contaminés, alors que la structure taxonomique fongique ne semble pas être fortement influencée par la multi-contamination.

IV.1.2 Influence des usages du sol sur la microflore

Comme précisé précédemment, certaines activités anthropiques souvent abordées dans la littérature sont les usages d'un sol et leur intensité. Le programme RMQS-Biodiv a mis en évidence des différences de biomasse microbienne dans les sols en fonction de leur usage (Figure 1.9). Les micro-organismes sont plus abondants dans les sols forestiers et prairiaux comparés aux sols agricoles (Cluzeau *et al.*, 2012). Nsabimana *et al.* (2004) ont également observé une plus faible biomasse microbienne dans les sols arables mais avec une activité microbienne (hydrolyse de la FDA²¹ et ammonification de l'arginine) plus élevée que dans des sols prairiaux ou forestiers. Sur les communautés de champignons mycorhiziens, l'intensité de l'usage des sols est également un facteur anthropique dominant (Oehl *et al.*, 2010). Dans les sols agricoles supportant une monoculture, la richesse en champignons mycorhiziens est plus faible par rapport à un sol prairial, soulignant l'importance de la diversité végétale dans la richesse en champignons mycorhiziens (Oehl *et al.*, 2010). La littérature reste relativement pauvre sur les effets des usages des sols sur la diversité microbienne. La difficulté de trouver ce type d'étude (en milieu tempéré) est notamment liée à un problème de sémantique entre « *land use* » (usage des sols) et « *land cover* » (couverture du sol) et Comber *et al.* (2008) le montrent dans leurs travaux. Cette confusion induit une perte de visibilité des études sur l'effet des usages du sol par rapport aux travaux sur la couverture du sol. En plus, les articles traitant de l'effet des usages du sol sur des paramètres biologiques sont beaucoup moins nombreux (32%) que ceux qui étudient l'effet de la couverture du sol (68%) (Comber *et al.*, 2008).

²¹ FDA : Fluorescein diacetate

Type d'usage du sol

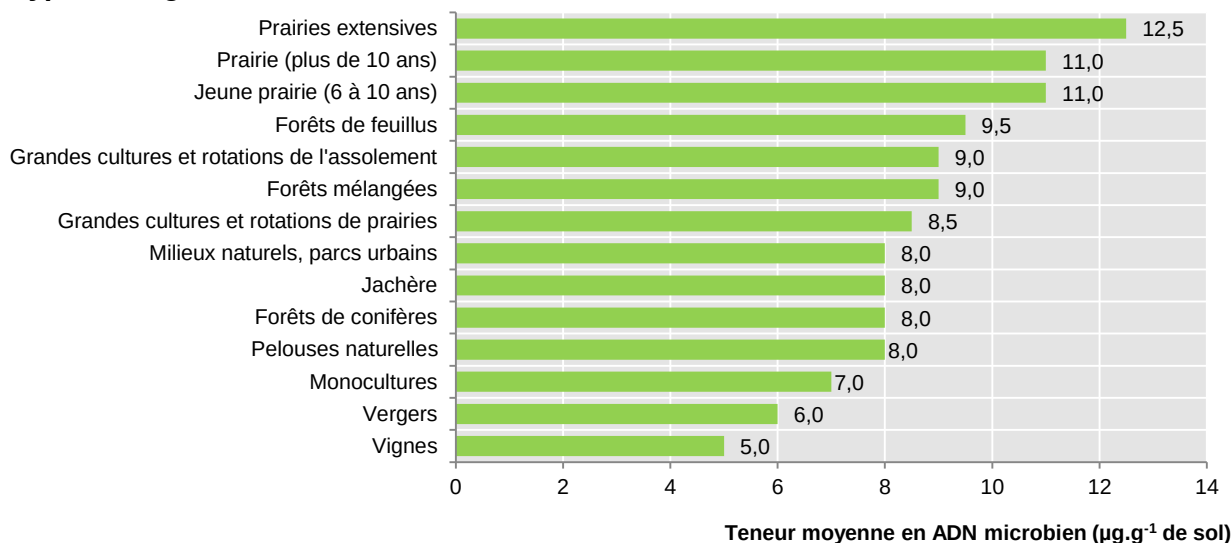


Figure 1.9 : Biomasse microbienne moyenne des sols en fonction du type d'usage en France métropolitaine. 1974 échantillons de sols issus du Réseau de mesures de la qualité des sols (RMQS). INRA Dijon, plateforme GenoSol – Gis Sol, 2012.

IV.2 Effets des contaminations et des usages des sols sur la mésofaune : le cas des collemboles

Les invertébrés du sol sont impactés par ces pressions anthropiques ; leur présence, absence ou abondance peuvent donc révéler l'impact potentiel d'une pression. Ils peuvent ainsi être utilisés pour évaluer l'anthropisation des sols qu'il s'agisse de la contamination (*e.g.* Cortet *et al.*, 1999) ou des différents types d'usages (*e.g.* Sousa *et al.*, 2006a). Ce chapitre s'est focalisé sur les collemboles, qui seront particulièrement étudiés dans la thèse, en raison de leur abondance et contribution au fonctionnement des sols.

IV.2.1 Les effets des contaminations du sol sur les collemboles

Les collemboles sont des organismes pionniers dans la recolonisation des sols contaminés aux ETM (Greenslade et Majer, 1993) mais une diminution de la diversité et de l'abondance est souvent observée dans ces sols pollués (Austruy *et al.*, 2016; Cluzeau *et al.*, 2012; Gillet et Ponge, 2003). Au sein de la communauté de collemboles, plusieurs auteurs ont observé une dominance des espèces hémi-édaphiques dans les sols contaminés (Parisi *et al.*, 2005; Cébron *et al.*, 2011). Cette dominance est induite par une forte abondance de deux espèces : *Parisotoma notabilis* et *Proisotoma minuta*. *Parisotoma notabilis* est une espèce considérée comme ubiquiste (Porco *et al.*, 2012) et est associée aux milieux ouverts et aux sols contaminés (Dunger and Schlitt, 2011). D'autres espèces sont souvent retrouvées sur des sites contaminés. Par exemple *Lepidocyrtus cyaneus* (Gillet et Ponge, 2003) ainsi que *Ceratophysella denticulata* et *Folsomia fimetaria*.

(Fountain et Hopkin, 2004) sont des espèces dominantes dans des sols contaminés en Zn et *Isotoma tigrina* sur des anciens sols miniers riches en plomb (Ponge *et al.*, 2003). Ces mêmes auteurs ont recensé l'espèce *Mesaphorura macrochaeta* comme étant la plus abondante sur les sites les plus contaminés aux métaux (Zn, Pb, Cd). Cette analyse bibliographique montre globalement que les espèces retrouvées sur des sols perturbés sont souvent des espèces inféodées aux milieux ouverts comme *Brachystomella parvula*, *Lepidocyrtus cyaneus* et *Sminthurinus elegans* (Gillet et Ponge, 2003; Ponge *et al.*, 2003). D'autres études se sont intéressées à des gradients de contaminations (Fountain et Hopkin, 2004; Santamaría *et al.*, 2012) et ont montré une diminution de la densité en collemboles lorsque le sol est situé à proximité d'une fonderie. La diversité est également affectée avec une diminution de la richesse spécifique lorsque la teneur en Pb dans le sol s'accroît (Fountain et Hopkin, 2004). L'effet de la contamination sur les communautés de collemboles n'est pas forcément clair car différents auteurs montrent également une augmentation de la densité sur des sols contaminés (Gillet et Ponge, 2003). Cette augmentation de la densité pourrait être attribuée à une diminution de la pression de prédation comme observé sur des sites ayant subi une acidification (Hågvar et Abrahamsen, 1980).

La structure fonctionnelle des communautés est également modifiée par la présence de contaminants dans le sol. Par exemple, Santorufo *et al.* (2014) montrent que, dans les sols urbains, la proportion en collemboles pigmentés, de petite taille (<1 mm) et avec une reproduction du type sexuée pouvait être corrélée aux concentrations en certains ETM (le Cu, le Cr, le Pb ou le Zn). Ces mêmes auteurs ont montré que les concentrations en Cd, Cr et Cu étaient corrélées à de nombreux traits comme la proportion en collemboles de forme cylindrique, pigmentés, capable de sauter, avec une stratégie de reproduction du type sexué. Comparer des études *in situ* sur la structure taxonomique et fonctionnelle des communautés de collemboles reste délicat car la végétation, tant par son abondance que sa richesse, est un facteur majeur de l'installation des invertébrés (Wardle, 2006). Par exemple, certains traits, souvent corrélés avec les concentrations en ETM, sont également liés au type de couverture végétale ; les espèces ayant une reproduction du type sexuée, épiédaphiques, pigmentées et de grande tailles sont souvent trouvées dans des sols contaminés et sont caractéristiques des milieux pauvres en végétation (Salmon *et al.*, 2014).

Dans des sols forestiers contaminés par des hydrocarbures, une diminution de la richesse taxonomique est observée (Ponge, 2004), mettant en évidence la toxicité du milieu pour les espèces les plus sensibles. L'abondance de quelques espèces, notamment de *Proisotoma minuta*, est favorisée par la présence d'hydrocarbures. Cette espèce a déjà été retrouvée sur des sites contaminés par des ETM (Gillet et Ponge, 2002). Dans d'autres sols forestiers contaminés par des hydrocarbures, peu d'*Entomobryidae* sont retrouvés alors qu'il s'agit de la famille la plus représentée chez les collemboles (Blakely *et al.*, 2002). A un niveau intermédiaire de

contamination en hydrocarbures (1800 mg.kg^{-1} de sol), la densité en collembole est la plus élevée, comparée à un sol non contaminé ou un sol fortement contaminé ($8150 \text{ mg.d'hydrocarbures.kg}^{-1}$ de sol) (García-Segura *et al.*, 2017). Erstfeld et Snow-Ashbrook (1999) montrent que la densité en collemboles est positivement corrélée avec la concentration en HAP sur un ancien site industriel. Toutefois, ces auteurs précisent que d'autres facteurs comme le pH, l'humidité et la granulométrie peuvent être confondants. Il est à noter que le nombre d'études de terrain sur l'effet des hydrocarbures reste limité.

IV.2.2 Les effets des usages du sol sur les collemboles

Des différences de structure des communautés de collemboles vivant sur des sols soumis à différents usages ont été rapportées dans la littérature (Filser *et al.*, 2002; Lauga-Reyrel et Deconchat, 1999; Ponge, 1993). Joimel *et al.* (2017) montrent d'ailleurs que l'usage des sols a un effet majeur, voire plus important que la contamination sur les communautés de collemboles. A partir de nombreuses données issues du RMQS, il est apparu que les sols agricoles (sol arables et de vignobles, avec 4000 et 6000 ind.m^{-2}) présentent une faible densité de collemboles alors que les SUTMA (19000 ind.m^{-2}) ont de plus fortes densités. Les sols forestiers et prairiaux sont intermédiaires en terme d'abondance en collemboles avec 10000 et 12000 ind.m^{-2} (Joimel *et al.*, 2017). De même, la richesse taxonomique est la plus faible dans les sols agricoles, avec trois espèces en moyenne (Joimel *et al.*, 2017) comparée à celle de sols urbains végétalisés (22 espèces), de sols forestiers (9 espèces) ou même de SUTMA (5 espèces). Les collemboles sont connus pour être des organismes fortement impactés par la nature et l'intensité des pratiques agricoles employées, incluant les rotations et le labour (Cluzeau *et al.*, 2012). La faible diversité en collemboles dans les sols arables a également déjà été observée par de nombreux auteurs (Heisler et Kaiser, 1995; Sousa *et al.*, 2006). Par exemple, l'installation d'une agriculture intensive a conduit à une perte de 30 espèces et une diminution de la densité en collemboles d'un facteur de 25 (Rusek, 1998). En revanche, Cluzeau *et al.*, (2012) ont observé que l'abondance la plus faible en collemboles n'était pas retrouvée dans des sols agricoles (9818 ind.m^{-2}), ni dans les prairies (12103 ind.m^{-2}), mais en forêt (5453 ind.m^{-2}). Il est important de noter que de nombreux facteurs entrent en jeu lorsque l'on parle d'usage des sols. Par exemple, Sousa *et al.* (2006) ont montré que la richesse en collemboles est diminuée en fonction de l'anthropisation (*land-use units*) en forêt alors que la tendance inverse est observée en milieux ouverts²². Leurs résultats montrent également qu'un sol ayant une grande diversité d'usages a une importante richesse en collemboles.

²² Milieux ouverts dans les travaux de Sousa *et al.* (2006) : milieux agricoles, champs, prairies et pâtures.

IV.3 Effets des contaminants et des usages des sols sur la macrofaune

IV.3.1 Les effets des contaminations du sol sur la macrofaune

Sur un gradient croissant de contamination métallique (Zn, Pb, Cd et Cu), plusieurs auteurs montrent une diminution de densité de la macrofaune, mais aucune corrélation avec la diversité n'a été observée dans ces travaux (Hedde *et al.*, 2012; Nahmani *et al.*, 2005; Nahmani et Lavelle, 2002). D'autres auteurs ont également souligné l'absence de relation entre la concentration en ETM et les indices de structure des communautés (Lock *et al.*, 2003; Tischer, 2008; Pižl *et al.*, 2009; van Gestel *et al.*, 2009). Dans l'étude de Nahmani et Rossi (2003), la présence de 3 taxa dans des sols de prairies contaminés en ETM (liée à la présence de déchets issus d'une fonderie de zinc) a été mise en évidence : il s'agit de deux diplopodes (deux *Polydesmus sp.*) et un gastéropode. Ces trois taxa sont des individus épigés, ce qui peut expliquer une exposition plus faible au contaminant comparée aux individus endogés car ils sont moins en contact avec la matrice contaminée (Roth, 1993). D'autres études montrent également que les diplopodes sont présents dans les sols contaminés par des ETM (Santorufio *et al.*, 2014; Lucisine *et al.*, 2015), notamment en Zn (Migliorini *et al.*, 2004), sans pour autant être retreints à ce type de milieu. Ils seraient donc adaptés à survivre en milieu contaminé mais aucune expérience montrant clairement leur tolérance aux métaux ne semble exister. Par contre, les escargots sont connus dans la littérature comme étant capables de s'adapter aux milieux contaminés par des ETM grâce à leur capacité à modifier leur absorption et leur taux d'excrétion des métaux (Beeby et Richmond, 1989). Des staphylins et des larves d'*Hopliinae* (*Scarabidae*) ont été retrouvés dans des milieux contaminés en ETM, et leur abondance était corrélée avec la concentration en Zn et Cu, en plus de la teneur en matière organique et l'humidité (Nahmani et Lavelle, 2002). Certaines espèces de vers de terre particulièrement sensibles à la pollution organique et inorganique peuvent être totalement absentes des sols pollués, comme *Aporrectodea caliginosa* (Nahmani et Lavelle, 2002; Spurgeon et Hopkin, 1996), *Aporrectodea rosea* et *Allolobophora chlorotica* (Spurgeon et Hopkin, 1996). De façon générale, cela se traduit par une diminution de la diversité spécifique en vers de terre dans les sols pollués.

Si l'on regarde au niveau fonctionnel *via* l'utilisation des traits (voir partie III.1.3), la proportion d'individus ayant un corps mou et de ceux qui ont un régime trophique du type géophage, comme les vers de terre, diminue fortement lorsque le niveau de contamination métallique augmente (Hedde *et al.*, 2012). Cette sensibilité est à la fois provoquée par contact direct et par ingestion des contaminants. Par contre, il a été observé une augmentation de la densité de certains vers de terre épigés, laissant supposer une tolérance aux métaux (Zn, Pb, Cd et Cu) chez cette catégorie de vers

(l'ingestion du sol étant plus limitée) et/ou à la présence d'une litière plus abondante sur ces sites (Nahmani et Lavelle, 2002). De même, d'autres auteurs ont montré que la densité en macrofaune (et également en mésofaune), et la densité en détritivores étaient plus importantes sur un site contaminé en ETM par rapport à des sites non contaminés (Lucisine *et al.*, 2015).

Dans des sols contaminés avec des déchets pétrochimiques (également contaminés en ETM), il a été observé que les densités en isopodes et en hyménoptères étaient plus élevées par rapport à un sol non-contaminé (Faulkner et Lochmiller, 2000). García-Segura *et al.* (2017) ont récemment étudié la biodiversité de la macrofaune dans des sols contaminés aux hydrocarbures. Ils ont montré que les densités en hyménoptères et en isoptères augmentaient alors que la densité en gastéropodes diminuait lorsque les teneurs en hydrocarbures augmentaient. Comme pour les collemboles, peu d'études *in situ* portent sur les communautés de la macrofaune dans des sols contaminés aux hydrocarbures.

IV.3.2 Les effets des usages du sol sur la macrofaune

Comme pour les autres compartiments biotiques, l'évaluation des impacts des usages des sols sur la macrofaune est souvent réalisée par la comparaison entre les milieux forestiers, prairiaux et cultivés. Dans l'étude RMQS BioDiv, c'est le sol cultivé qui abrite la plus faible densité de la macrofaune (457 ind.m⁻²). Le sol forestier (545 ind.m⁻²) et surtout le sol prairial (678 ind.m⁻²) ont des densités plus élevées (Cluzeau *et al.*, 2012). Une méta-analyse réalisée par Attwood *et al.* (2008) montre un déclin général de la richesse en arthropodes avec l'intensification des usages du sol. De nombreuses explications peuvent être données sur les raisons d'une plus grande diversité dans les sols où l'intensité des usages est plus faible. Une des raisons couramment admise est liée à l'hétérogénéité des habitats. En effet, la diversité des habitats, et par conséquent des niches, tend à diminuer avec l'intensification des usages des sols (Eggerton *et al.*, 2005).

L'un des effets négatifs de l'anthropisation les plus documentés est un changement dans la composition des communautés au profit d'espèces généralistes et opportunistes. Ces espèces sont généralement de petite taille et ont de fortes capacités de dispersion (Magura *et al.*, 2008; Niemelä *et al.*, 2011). Pourtant, en milieu urbain, les communautés de macrofaune tendent à être relativement diversifiées, pouvant parfois même présenter des espèces rares. Parmi ces milieux urbains, les friches et autres délaissés urbains ont été étudiés, montrant que ces sols ont un potentiel comme zone refuge (Jones et Leather, 2012). Au niveau taxonomique, les diplopodes et chilopodes sont plus abondants dans les milieux forestiers que dans les milieux cultivés ou prairiaux, en lien avec la présence de matière organique plus importante pour les diplopodes et par conséquent, d'un nombre de proies plus important pour les chilopodes (Callahan *et al.*, 2006).

Les prédateurs de la famille des carabes et des staphylinins sont très communs mais leur abondance n'est pas la même en fonction du type d'usage ; ils ont été retrouvés plus nombreux dans les sols prairiaux et cultivés par rapport aux sols forestiers (Callaham *et al.*, 2006). La présence d'habitats spécifiques influence la composition des communautés d'arthropodes. C'est le constat fait par McIntyre *et al.* (2001) qui met en évidence que la plupart des taxons sont généralistes mais que certains sont retrouvés spécifiquement sur certains sols ayant un usage particulier. Par exemple, les *Labiduridae* sont principalement retrouvés dans les sols agricoles alors que les *Tenebrionidae* vont plutôt se retrouver en milieu urbain.

La plupart des études sur les effets des pressions anthropiques se concentrent sur un seul compartiment biotique (c'est-à-dire les micro-organismes ou mésofaune ou macrofaune), en ignorant les autres. Or, afin d'améliorer la compréhension de l'intégralité de la biosphère, il est important de prendre en compte les différents compartiments biotiques et leurs interactions simultanément. Dans la prochaine partie, nous donnerons quelques exemples d'études prenant en compte plusieurs compartiments biotiques.

IV.4 Intérêts des approches multi-compartimentales dans l'étude des effets des perturbations anthropiques

Bien qu'il soit reconnu que les différents compartiments biotiques interagissent entre eux (voir partie V), la plupart des études *in situ* de la biodiversité se concentrent sur des groupes taxonomiques ou fonctionnels de façon indépendante les uns des autres (Gaertner *et al.*, 2010; Hedde *et al.*, 2012). Pourtant, l'étude de la communauté entière, et non des composantes biotiques isolées, permet d'inclure la plupart des fonctions biologiques (De Andrade *et al.*, 2014; Soliveres *et al.*, 2016).

Seuls quelques travaux portent sur l'étude simultanée de différents compartiments biotiques, sur un même sol anthropisé et à un même moment. Par exemple, dans le cadre du projet RMQS BioDiv, les micro-organismes, la micro-, la méso- et la macrofaune ont été étudiés conjointement dans le but de multiplier le nombre de bio-indicateurs de milieux perturbés (Cluzeau *et al.*, 2012). Cébron *et al.* (2011) ont étudié les activités microbiennes, les communautés de nématodes et des protozoaires, ainsi que la mésofaune (les collembolés plus particulièrement) afin d'évaluer l'impact de la réhabilitation d'un sol contaminé par des HAP et des ETM, sur les chaînes trophiques et d'identifier des bio-indicateurs. Les micro-organismes et la mésofaune ont également été étudiés conjointement dans des sols contaminés par des HAP afin de déterminer des indicateurs taxonomiques et fonctionnels de la contamination (Blakely *et al.*, 2002). Boshoff *et al.* (2014) ont évalué l'effet d'un gradient de contamination métallique sur l'ensemble des groupes intervenant

dans une fonction commune : la décomposition des matières organiques. Pour cela, ils ont couplé la mesure de la décomposition de pastilles de cellulose (outils « bait lamina ») pour mesurer l'activité de la micro-, la méso- et la macrofaune et celle de la minéralisation par les micro-organismes (méthode Biolog). D'autres études se sont intéressées, en simultanée, aux différents groupes trophiques de plusieurs compartiments biotiques (vers de terre, micro-arthropodes, enchytréides, nématodes, bactéries) (Postma-blaauw *et al.*, 2012; Sechi *et al.*, 2017). Postma-blaauw *et al.* (2012) montrent par exemple que les organismes les plus petits (nématodes et protozoaires) sont les plus affectés lorsque l'agriculture sur un sol s'intensifie. Sechi *et al.* (2017) montrent que les réseaux trophiques (groupes éco-morphologiques) sont également affectés par les pratiques agricoles.

Certains auteurs cherchent à identifier les interactions entre ces compartiments *via* des approches de réseaux de co-occurrence. C'est le cas de Creamer *et al.* (2016) qui se sont intéressés aux effets des usages sur ces réseaux et qui montrent un appauvrissement des interactions dans les sols arables comparés à des sols forestiers et prairiaux (en lien avec les teneurs en carbone organique et au pH). Ces auteurs se sont intéressés aux micro-organismes (bactéries, champignons MA ou non, archées) et à la micro- et mésofaune. Les mêmes composantes biotiques ont également été prises en compte pour étudier l'évolution temporelle des réseaux d'interactions biotiques après l'abandon des sols arables (Morriën *et al.*, 2016).

La contamination et le type d'usage des sols affectent et modifient la biodiversité taxonomique et fonctionnelle des micro-organismes et de la faune. Ainsi, cette pression anthropique impacte donc la qualité du sol, ses fonctions et ses services. Mais beaucoup de ces études considèrent de fortes concentrations en polluants, ou différents usages, mais qu'en est-il des sols modérément contaminés et sans usage ? Est-ce que les structures taxonomiques et fonctionnelles des communautés retrouvées dans des sols délaissés sont similaires à des sols fortement contaminés, ou à des sols urbains, de prairies ou agricoles ?

Les effets de ces pressions anthropiques n'affectent pas chaque compartiment indépendamment les uns des autres mais également les interactions entre eux.

V LES INTERACTIONS BIOTIQUES DANS LES SOLS

Dans cette partie, nous aborderons tout d'abord des généralités sur les interactions biotiques, dans le sol notamment. Ensuite nous nous focaliserons sur les conséquences fonctionnelles des interactions entre la microflore (essentiellement les champignons et bactéries) et la faune du sol (essentiellement les collemboles).

V.1 Généralités et interactions biotiques dans les sols

La diversité des espèces et leur coexistence dans un même espace-temps ont entraîné l'apparition d'**interactions biotiques** multiples (Bertrand *et al.*, 2011). L'interaction biotique apparaît comme une caractéristique fondamentale du biota, au même titre que le métabolisme et la reproduction. Ces interactions prennent des formes multiples et particulièrement diversifiées. Elles sont classées en deux catégories : les interactions bénéfiques (mutualisme, symbiose, commensalisme, phorésie), et antagonistes (prédation, parasitisme, compétition, amensalisme) (Lidicker, 1979) (Tableau 1.7).

Tableau 1.7 : Interactions biotiques (d'après Karimi *et al.* (2017)) et exemples dans le milieu terrestre.

Effet sur l'organisme A	Effet sur l'organisme B	Type d'interaction biotique	Exemples dans le sol
+	+	Mutualisme, Symbiose	Mycorhizes, Bactéries fixatrices d'azote
0	+	Commensalisme, Phorésie	Utilisation de produits secondaires du métabolisme de champignons cellulotiques par d'autres champignons, Micro-organismes transportés par la faune
+	-	Prédation, Parasitisme	Broutage des champignons par les collemboles, Champignons parasites
-	-	Compétition	Acariens et collemboles mycophages
0	-	Amensalisme	Activités bactériennes modifiant le pH ayant un effet négatif sur d'autres espèces sans pour autant y avoir un retour bénéfique.

V.2 Effets des interactions microflore-faune du sol sur la biodiversité

Dans la partie IV, il a été mis en évidence que des paramètres abiotiques comme la contamination, le pH, la teneur en matière organique, les concentrations en éléments minéraux *etc.* pouvaient influencer la structure taxonomique et fonctionnelle des différentes communautés du sol.

Pourtant, ces communautés vont elle-même, par leurs interactions biotiques, modifier leur structure taxonomique et fonctionnelle. Le nombre d'études portant sur les effets des interactions biotiques sur la biodiversité dans les sols anthropisés est limité. Quelques travaux étudient les interactions biotiques en milieu agricole (Shennan, 2008), ou en milieu contaminé en ETM (Šalamún *et al.*, 2017), mais portent sur le végétal comme acteur des interactions biotiques.

Wardle (2006) a fait une synthèse des interactions biotiques entre microflore et faune dans les sols de façon générale et précise qu'il existe trois types d'interactions régulant la biodiversité : (i) les interactions au sein du même groupe trophique, (ii) les interactions entre différents groupes trophiques et (iii) les interactions non trophiques.

- **Interactions au sein d'un même groupe trophique** : Par exemple, la présence d'une espèce fongique saprophyte colonisant un substrat empêche la colonisation d'autres espèces fongiques saprophytiques sur ce substrat (litière : Garrett, 1963 ; ou bois : Boddy, 2000 ; Rayner et Todd, 1980). Des phénomènes de compétition peuvent également déterminer la diversité des champignons ectomycorhiziens à l'échelle racinaire. En effet, Jonsson *et al.* (2001) ont montré que l'inoculation simultanée d'espèces de champignons ectomycorhiziens différents diminuait les chances que ces espèces colonisent les racines, par rapport à une inoculation monospécifique. D'après Wardle (2006) les compétitions entre les champignons endomycorhiziens sont rares. Selon ces auteurs, les compétitions sont également rares entre les espèces de la mésofaune du même groupe trophique (Cragg et Bardgett, 2001) car de nombreux facteurs minimisent la compétition.

- **Interactions entre différents groupes trophiques** : La diversité de nombreuses composantes biotiques est régulée par la prédation, et de nombreux exemples peuvent illustrer cela. Cette régulation par la prédation concerne à la fois la relation faune-faune (relation proie-prédateur), et la relation faune-microflore (relation microflore-consommateur ou *grazing* en anglais) (Wardle, 2002). La relation microflore-consommateur est davantage détaillée dans la partie V.3. Certains animaux montrent une prédation sélective de certaines espèces au sein des communautés fongiques saprophytiques (Moore *et al.*, 1987; Klironomos *et al.*, 1992; Bonkowski *et al.*, 2000), mycorhiziennes (Klironomos et Kendrick, 1996) et pathogènes de plantes (Sabatini et Innocenti, 2000), modifiant ainsi la diversité taxonomique des communautés fongiques. Ce phénomène a également été observé entre les bactéries et les nématodes ou les protozoaires (Cadotte et Fukami, 2005; Jiang et Morin, 2005). Tiunov et Scheu (2005) ont étudié les effets d'une interaction triple entre un champignon MA (*Funneliformis sp.*), des collembolles (*Protaphorura fimata*, *Heteromurus nitidus* et *Folsomia candida*) et une communauté de champignons saprophytes. Ils montrent que la présence de champignons MA modifie la structure taxonomique

des communautés de champignons saprophytes et que cette modification est accentuée en présence de collemboles. Ces auteurs supposent que la consommation des champignons saprophytes par les collemboles libère des nutriments, modifiant ainsi la colonisation du champignon AM. Corgié *et al.* (2006) ont montré également que la mycorhization du ray-grass par *F. mosseae* augmente la dégradation des HAP en augmentant la densité des populations bactériennes capables de dégrader les HAP.

- **Interactions non trophiques** : La faune du sol est un agent important dans l'activation et la dispersion²³ des microorganismes incluant les bactéries, les champignons saprophytes, pathogènes et mycorhiziens (Visser, 1985; Dromph, 2003; Rantalainen *et al.*, 2004). En effet, les micro-organismes, ne pouvant se déplacer dans le sol, attendent la plupart du temps, en dormance, des conditions favorables (température, hygrométrie et, surtout, présence de substrat organique) (voir partie V.3.1.3). De plus, la faune peut également réguler la diversité microbienne en modifiant les conditions physico-chimiques du milieu (Brown, 1995; Lavelle et Spain, 2001). C'est le cas par exemple des collemboles par leurs boulettes fécales (Thimm *et al.*, 1998) et les lombrics par leurs turricules, favorisant la diversité taxonomique fongique (McLean et Parkinson, 1998; Tiwari et Mishra, 1993).

L'analyse de la littérature sur les interactions biotiques dans les sols, montre que les études se concentrent principalement, voire essentiellement, sur les interactions entre les micro-organismes et les plantes, ou entre les différents groupes microbiens. Si nous nous intéressons aux interactions biotiques entre la faune du sol et les micro-organismes, ce sont les interactions microorganismes - vers de terre ou microorganismes - nématodes qui sont les plus étudiées (*e.g.* Aghababaei *et al.*, 2014; Hua *et al.*, 2014; Schaefer *et al.*, 2005; Yu et Cheng, 2002). Les **interactions collemboles-microflore** dans les sols anthropisés sont beaucoup moins considérées. C'est pourquoi ces interactions collemboles-microflore seront étudiées dans ce travail de thèse.

Ces interactions entre les organismes vont modifier les fonctions du système étudié : ce sont les **conséquences fonctionnelles**. Ainsi, dans la partie suivante, nous détaillerons les interactions entre les collemboles et la microflore et les issues fonctionnelles de leurs interactions, notamment la **croissance végétale** et la **mobilité et le transfert des éléments minéraux et des polluants** du sol aux plantes.

²³ Le transport d'un organisme par un autre est appelé « phorésie »

V.3 Interactions microflore-faune du sol et conséquences sur le fonctionnement végétal

Les sols fortement anthropisés et les sols délaissés sont souvent caractérisés par une faible fertilité et une contamination (métallique et/ou organique) (voir partie II.2.2). Dans le cadre de leur restauration/réhabilitation, la question du rôle des organismes présents dans les sols et de leurs interactions sur ces conséquences fonctionnelles est ainsi pertinente car, comme vu dans la partie précédente, ces interactions peuvent réguler la biodiversité et donc le fonctionnement des écosystèmes. Cependant, peu d'études ont été réalisées sur les interactions biotiques dans les sols fortement anthropisés ou dégradés. C'est pourquoi l'analyse bibliographique porte plus généralement sur les interactions entre la microflore et la faune du sol dans les sols.

V.3.1 Effets des interactions biotiques sur la croissance du végétal

De nombreuses interactions entre la microflore et la faune du sol influencent la croissance du végétal. Parmi les effets de ces interactions, les plus cités dans la littérature portent sur (i) la disponibilité des éléments nutritifs à la plante, (ii) la consommation de champignons mycorhiziens et (iii) la dissémination des micro-organismes par la faune du sol.

V.3.1.1 *Interactions microflore-faune et disponibilité des éléments nutritifs pour la plante*

Les microorganismes influencent considérablement la disponibilité des éléments dans les écosystèmes. Cependant, une partie de la faune du sol, consommatrice de micro-organismes, régule fortement les dynamiques nutritionnelles et les communautés végétales en altérant les équilibres entre immobilisation et minéralisation microbienne (Moore *et al.*, 2003). Ainsi, la productivité végétale peut être accrue par les activités microbiennes qui modifient rapidement la disponibilité des éléments, notamment l'azote et le phosphore, en les rendant plus mobiles et/ou favorisant leur absorption par la plante (Bardgett et Wardle, 2010). Toutefois, les micro-organismes peuvent également affecter négativement la nutrition de la plante, et donc sa croissance, en stockant des éléments, comme l'azote. Immobilisés dans le compartiment microbien²⁴, ces éléments sont temporairement indisponibles pour les plantes (Bardgett *et al.*, 2007). Cette immobilisation des éléments par les micro-organismes a été décrite principalement dans des sols de prairie (pauvres en azote) et les milieux limités en nutriments de façon générale (Nordin *et al.*, 2004).

²⁴ Les microorganismes accumulent des quantités considérables de carbone et d'éléments minéraux dans leur biomasse, rendant inaccessible ces éléments pour les autres organismes, notamment les végétaux.

La libération de nutriments immobilisés dans la biomasse microbienne peut résulter de la prédation de ces micro-organismes par les protozoaires, nématodes et micro-arthropodes, en excréant des nutriments qui sont en excès pour leurs besoins (Bardgett et Wardle, 2010). Cette remobilisation des nutriments est nommée « **boucle microbienne** » (Clarholm, 1985), et est considérée comme un point de contrôle primaire de la disponibilité des nutriments au sein de la rhizosphère. De nombreux travaux supportent ce concept de boucle microbienne en rapportant des effets positifs de la prédation microbienne par la faune du sol à la fois sur la disponibilité et l'absorption des éléments par les plantes (Clarholm, 1985) ainsi que sur leur croissance (Bardgett et Chan, 1999; Setälä, 1995). De plus, dans le cas des micro-arthropodes fongivores, il a été montré que la prédation par cette faune peut être hautement sélective et peut fortement modifier la composition, la biomasse, la morphologie, la phénologie et l'activité des communautés microbiennes (Bonkowski *et al.*, 2009).

V.3.1.2 Consommation de champignons mycorhiziens par la faune du sol

Parmi les petits invertébrés du sol, les fongivores (collemboles, acariens oribates, nématodes) sont fortement abondants et dominant habituellement les communautés du sol en terme de richesse spécifique. Les fongivores se nourrissent à la fois de champignons mycorhiziens et de champignons saprophytes (Tiunov et Scheu, 2005), ce qui affecte le transfert des nutriments dans les plantes (Hättenschwiler *et al.*, 2005).

De nombreuses études en milieux contrôlés ont montré des effets positifs de la consommation de champignons MA par les collemboles sur la croissance du végétal. Comme détaillé dans la partie III.2.2.2, la symbiose mycorhizienne accroît la croissance du végétal. En faisant une synthèse sur ces interactions collemboles-champignons MA, Gange (2000) observe que dans chaque cas, la réponse de la plante mycorhizée à l'augmentation de la densité des collemboles forme une courbe du type Gaussienne. Ce phénomène est également visible avec des collemboles se nourrissant de champignons non mycorhiziens (Hopkin, 1997). A de faibles densités de collemboles, la croissance du mycélium n'est pas stimulée. Par contre, lorsque la densité en collemboles est trop élevée, la croissance du mycélium est diminuée car la prédation par les collemboles est trop forte. La stimulation de la croissance végétale à une densité intermédiaire de collemboles est liée à l'accroissement des hyphes ou de la minéralisation de l'azote et du phosphore (Klironomos et Kendrick, 1996). En conséquence, l'absorption minérale par la plante est augmentée, car l'exploration du sol par les hyphes fongiques est accrue. Par ailleurs, la libération d'azote et de phosphore venant des fèces des collemboles pourrait être suffisante pour compenser les pertes de surfaces mycéliennes (Hättenschwiler *et al.*, 2005). Cet effet positif de la présence de collemboles à des densités intermédiaires a également été constaté *in situ* (Steinaker et Wilson, 2008).

Les effets de cette consommation de champignon MA par les collemboles dépendent des préférences des espèces de collemboles. En effet, certains collemboles préfèrent se nourrir de jeunes hyphes riches en nutriments (Moore *et al.*, 1987), ce qui peut avoir des effets négatifs sur la croissance du champignon MA. Dans d'autres cas, les hyphes plus vieux sont préférés aux jeunes hyphes, ce qui est un avantage pour la croissance végétale car la décomposition de ces hyphes anciennes apporte une nouvelle source nutritive (Posta et Bakonyi, 2008).

Toutefois, toutes ces études sont réalisées dans des conditions simplifiées où les collemboles sont mis en présence d'une seule espèce de champignon MA comme source de nourriture. Des expériences en conditions plus réalistes (addition de trois espèces d'acariens et trois espèces de collemboles à des densités similaires à celles retrouvées *in situ*, en présence d'un champignon MA) ne montrent pas d'effet sur la croissance de l'érable (*Acer saccharum*) (Klironomos et Kendrick, 1995).

Les collemboles peuvent se nourrir d'hyphes mycorhiziennes, mais celles-ci semblent moins appétentes pour les collemboles par rapport aux champignons saprophytes (Gange, 2000; Jørgensen *et al.*, 2005; Ruess *et al.*, 2000; Sabatini et Innocenti, 2001). Une des raisons de cette différence d'appétence entre champignons saprophytes et mycorhiziens pourrait être liée au *Optimal Foraging Model* (OFT). Ainsi, selon ce modèle, les champignons saprophytes pourraient apporter un rapport « énergie pour rechercher la nourriture » sur « énergie fournie par la nourriture » plus avantageux que les champignons MA, pour les collemboles. Ces préférences peuvent varier en fonction des espèces fongiques et des espèces de fongivores (Ruess *et al.*, 2000). Ainsi plusieurs auteurs (Fry, 2006; Jonas *et al.*, 2007), montrent que les champignons saprophytes représentent entre 40 et 80% (selon le type de sol et les espèces végétales) et les champignons MA représentent 20% à 60% du régime alimentaire des collemboles (en fonction de l'espèce fongique et de collemboule).

V.3.1.3 Dissémination et activation des micro-organismes par la faune du sol

Les micro-organismes étant peu mobiles et peu actifs dans le sol, la faune du sol joue un rôle de vecteur de dispersion et d'activation de la microflore dans le sol et également dans la rhizosphère. Les micro-organismes sont la plupart du temps inactifs, attendant d'autres organismes tels que la faune et les végétaux, qui les mettront en présence de substrats organiques. Ce phénomène a été conceptualisé par Lavelle *et al.* (1995) sous le nom du « paradoxe de la Belle au Bois Dormant ». Cette activation et dispersion des micro-organismes par la faune va également avoir une influence sur la biodiversité taxonomique et fonctionnelle des communautés de la rhizosphère, ce qui a des conséquences sur la croissance du végétal.

Les nématodes semblent être particulièrement performants pour disperser les bactéries dans la rhizosphère car leurs fèces peuvent contenir de 30 à 60% de cellules bactériennes ingérées sous

forme viables et peuvent notamment protéger les bactéries de stress environnementaux (Knox *et al.*, 2003, 2004). Les acariens oribates sont également des vecteurs importants de micro-organismes, notamment d'espèces fongiques (Renker *et al.*, 2005b). D'autres micro-arthropodes montrent également une capacité à disséminer des spores viables de champignons ectomycorhiziens et MA (Lilleskov et Bruns, 2005; Menta *et al.*, 2016; Seres *et al.*, 2007), et également des champignons entomopathogéniques et saprophytes (Dromph, 2003; Renker *et al.*, 2005a), notamment les collembolés.

La capacité de dispersion des micro-organismes par les collembolés dépend de l'espèce. Par exemple, *S. coeca* présente de meilleures facultés pour transporter des spores de champignons MA que *F. candida* (Seres *et al.*, 2007). Posta et Bakonyi (2008) soulignent que le transport des spores de champignons par adhésion à la surface des collembolés serait peu probable car les fragments de spores et d'hyphes seraient plutôt transportés par voie intestinale.

Gormsen *et al.* (2004) montrent que les lombrics et les collembolés affectent la dispersion des champignons MA dans un rayon de 20 cm. A une échelle plus grande que la rhizosphère, Harinikumar et Bagyaraj (1994) montrent clairement que les lombrics et les fourmis offrent un moyen de dissémination important pour les champignons MA.

Un autre effet de la faune seule ou de la consommation de micro-organismes par cette faune sur la croissance végétale est lié à la synthèse d'hormones de croissance ou de molécules « *hormones-like* » par la faune. Ces substances peuvent favoriser la croissance végétale en agissant directement sur la plante (Bonkowski et Brandt, 2002; Jana *et al.*, 2010; Scheu *et al.*, 2005), ou indirectement en stimulant la colonisation mycorhizienne (Yu *et al.*, 2005). Il a été également montré que la croissance végétale peut être augmentée en présence de collembolés car ces derniers, par le mode trophique, diminuent la densité en champignons phyto-pathogènes (Sabatini et Innocenti, 2000).

V.3.2 Effets des interactions biotiques sur la dynamique des métaux

La dynamique des polluants en général, et celle des ETM en particulier, a été très peu étudiée dans les interactions collembolés-mycorhizes-plantes. Généralement, les études portent sur les effets des ETM sur les interactions collembolés-champignons MA et non l'inverse. Les études sur les effets des interactions faune-microflore sur la dynamique des métaux mettent la plupart du temps en jeu les vers de terre et les champignons MA (Aghababaei *et al.*, 2014; Aghababaei et Raiesi, 2015; Ma *et al.*, 2006; Yu *et al.*, 2005).

La mycorhization par *Funneliformis intraradices* ou *F. mosseae* provoque une diminution de la concentration en Cd dans la plante (*Zea mays*) mais l'effet n'est plus observable en présence du lombric *Lombricus terrestris* (Aghababaei *et al.*, 2014). Les mêmes résultats ont été observés pour

le tournesol (*Helianthus annuus*) mais l'effet de l'interaction est dépendant de l'espèce de champignon MA (Aghababaei et Raiesi, 2015). Dans la même étude, une augmentation de la concentration en phosphore dans les parties aériennes est également observée lorsque la plante est mycorhizée, et l'effet est significativement plus élevé lorsque le lombric est associé à la plante mycorhizée. Dans les travaux de Yu *et al.* (2005), les concentrations en Cd dans les parties aériennes et racinaires du ray-grass (*Lolium multiflorum*) sont plus élevées pour les plantes mycorhizées cultivées (par *F. intraradices* ou *F. mossaea*) en présence de lombrics (*Pheretima sp.*) par rapport aux plantes mycorhizées cultivées sans lombric. Par contre, Ma *et al.* (2006) montrent que c'est la colonisation par le champignon MA (*F. mossaea*) qui provoque une diminution de la concentration en Zn et Pb dans les parties racinaires de *Leucaena leucocephala* et que l'ajout du lombric *Pheretima guillelmi*, avec ou sans champignon MA, ne modifie pas les concentrations en éléments dans la plante.

La seule étude retrouvée sur les interactions collembolles-mycorhizes et les ETM a été réalisée par Seres *et al.* (2006) et montre que la présence du collembolle *Folsomia candida* peut réduire la concentration en zinc dans les racines du maïs, indépendamment de la présence du champignon MA, *F. intraradices*. Par contre, l'abondance en collembolles ne modifie pas l'absorption de Zn par les plantes. Ainsi, dans cette étude les collembolles modifiaient directement l'absorption en Zn par le maïs, sans relation directe avec les mycorhizes (Seres *et al.*, 2006).

Le nombre de travaux portant sur les effets des interactions biotiques entre la faune et les micro-organismes sur la biodiversité, la croissance du végétale et la dynamique des métaux dans des sols fortement anthropisés est limité. Pourtant, l'évaluation de la qualité des sols anthropisés nécessite de prendre en compte ces interactions. Des conclusions sur la qualité des sols peuvent être biaisées si les interactions biotiques ne sont pas prises en compte. Par exemple, nous pouvons supposer qu'une faible biomasse végétale ne serait pas liée à une contamination du sol mais peut-être à l'absence simultanée de la mésofaune et de champignons MA.

VI OBJECTIFS DE LA THESE

L'étude de la qualité des sols prend rarement en compte les propriétés abiotiques, biotiques et fonctionnelles du sol simultanément, alors que ces approches sont complémentaires. De plus, la prise en compte de plusieurs compartiments biotiques (bactéries, champignons, méso-, macrofaune, plantes *etc.*) et des interactions biotiques permet d'avoir une vision plus intégrée de la biodiversité et des conséquences sur le fonctionnement du sol. La littérature montre que la biodiversité taxonomique et fonctionnelle des micro-organismes et de la faune est modifiée par la contamination et le type d'usage des sols. L'analyse de la littérature montre aussi que les interactions biotiques, notamment entre les micro-organismes, la faune et les plantes pouvaient modifier la croissance végétale, la dynamique des métaux et sur la biodiversité elle-même.

Ainsi, les conditions particulières des sols délaissés (peu fertiles, avec une contamination faible ou modérée et sans usages) pourraient sélectionner une biodiversité particulière, tant au niveau taxonomique que fonctionnel. En outre, ces sols étant caractérisés comme étant peu fertiles, il est possible que les interactions biotiques jouent un rôle important dans des fonctions écosystémiques et sur la biodiversité elle-même. Afin de pouvoir envisager une valorisation potentielle des délaissés, il est ainsi nécessaire de préciser leurs caractéristiques et fonctionnement.

Dans ce contexte, **l'objectif de la thèse était de caractériser des sols fortement anthropisés délaissés, notamment leur fonctionnement biologique.** Pour répondre à cet objectif, différentes approches ont été développées, essentiellement des **approches de terrain**, afin de caractériser les sols délaissés dans les conditions les plus réalistes possibles. Une étude intégrée des paramètres abiotiques, biotiques et fonctionnels de plusieurs sols délaissés a tout d'abord été réalisée, suivie d'une étude spécifique de la structure taxonomique et fonctionnelle des communautés de différents groupes biotiques dans ces sols. L'évolution temporelle des paramètres abiotiques et biotiques dans un des sols délaissés a ensuite été étudiée. Cette approche de terrain a été complétée par une **expérience en laboratoire**, pour étudier les interactions biotiques entre un collembole, un champignon mycorhizien et une plante dans deux sols délaissés.

Six sols anthropisés délaissés ont été étudiés car ils présentent des différences au niveau de leur origine et de leurs caractéristiques physico-chimiques. Ainsi, des sols provenant de deux anciennes cokeries, d'un ancien bassin à boues sidérurgiques, d'une installation de stockage de

déchets inertes et deux sols construits à partir de différents substrats et de sols décontaminés ont été étudiés. Afin de prendre en compte les différents compartiments biotiques, les bactéries, les champignons, la mésofaune, la macrofaune et les plantes herbacées ont été considérés dans la thèse, en termes d'abondance et de diversité. Pour la faune et pour les champignons du sol et des racines, la biodiversité taxonomique a été complétée par une approche de la biodiversité fonctionnelle basée sur les traits. Les collemboles et les champignons mycorhiziens, dont le rôle dans les sols et les interactions potentielles ont été montrés dans d'autres types de sols, ont été spécifiquement étudiés dans une expérience au laboratoire avec deux des sols délaissés. Ainsi, les interactions entre le collembole *Sinella caeca*, le champignon mycorhizien à arbuscule *Funneliformis mosseae* BEG 69 et l'herbacée *Lolium multiflorum* var. Podium ont été étudiés.

Un objectif majeur de la thèse était de mesurer la qualité des sols délaissés par l'étude des paramètres abiotiques, biotiques (micro-organismes, faune et flore) et fonctionnels. Pour cela, trois questions ont tout d'abord été posées :

- Les sols délaissés présentent-ils une biodiversité importante et sont-ils fonctionnels ?
 - Les niveaux de biodiversité sont-ils différents selon les sols délaissés ?
 - Quels sont les liens entre les paramètres abiotiques et les paramètres biotiques et fonctionnels ?
- Pour cela une caractérisation intégrée des paramètres abiotiques, biotiques et fonctionnels des six sols délaissés a été réalisée à partir d'échantillons prélevés *in situ* (**Chapitre 3**). Dans ce chapitre, nous avons considéré la biodiversité fonctionnelle par des mesures directes de certaines fonctions (activités enzymatiques et capacité de minéralisation) ou l'approche des traits (abondance en copie de gènes intervenant dans la dégradation des HAP et la proportion de méso et macro-décomposeurs).

Toutefois, nous avons vu dans l'état de l'art que la diversité fonctionnelle des communautés pouvait aussi être estimée par des traits. Nous avons voulu **caractériser les sols délaissés selon la structure taxonomique et la structure basée sur l'approche des « traits » des collemboles, de la macrofaune et des champignons.** Cette partie avait pour objectifs spécifiques de répondre aux questions suivantes :

- La structure taxonomique et celle basée sur les traits des communautés des sols délaissés sont-elles particulières ?
- La structure taxonomique et celle basée sur les traits des communautés sont-elles différentes selon les sols délaissés ?
- Quels sont les liens entre les paramètres abiotiques et la structure basée sur les traits des communautés ?

Une étude spécifique de la structure taxonomique et fonctionnelle sur deux différents groupes biotiques appartenant à deux règnes différents (la faune et les champignons) a été réalisée pour ces mêmes sols délaissés. Dans un premier temps, les communautés de collemboles et de la macrofaune ont été étudiées car ces animaux peuvent être des indicateurs de la qualité des sols et que les outils permettant d'étudier les traits de ces communautés sont existants et facilement utilisables (**Chapitre 4**). Ensuite, les communautés fongiques ont été étudiées car ces micro-organismes interviennent dans de nombreux processus du sol, notamment par leur mode trophique. De plus, un outil a été récemment développé, permettant de passer d'une structure taxonomique à une structure fonctionnelle des communautés fongiques basée sur le trait « mode trophique » (**Chapitre 5**).

Sachant que les paramètres abiotiques et biotiques évoluent dans le temps, ces paramètres ont été mesurés au cours du temps sur un des sols délaissés précédemment étudié, un sol construit et contaminé par des ETM et constitué de quatre modalités. Ainsi, **le quatrième objectif de ce travail de thèse était de suivre au cours du temps les paramètres abiotiques et biotiques de quatre modalités d'un Technosol construit (Chapitre 6)**. Pour cela, il s'agissait de répondre à la question :

Quelle est la dynamique temporelle des paramètres abiotiques et biotiques dans un sol délaissé, en particulier d'un Technosol construit et de ses modalités ?

Ces travaux de thèse se sont aussi basés sur des **études en laboratoire** afin de comprendre plus finement les mécanismes des interactions biotiques entre les deux groupes biotiques étudiés dans les chapitres 4 et 5 : la faune et les champignons. La revue de la littérature montre que peu d'études portant sur les interactions entre les collemboles et les champignons mycorrhiziens à arbuscules ont été réalisées dans des sols anthropisés, alors que ces organismes sont abondants dans les sols fortement anthropisés et ont des fonctions écologiques importantes. C'est pourquoi **le cinquième objectif de ce travail de thèse était d'étudier les effets des interactions biotiques collemboles-champignons mycorrhiziens sur la dynamique des métaux et la croissance végétale dans des sols délaissés (Chapitre 7)**. Il s'agissait de répondre à une principale question :

Quels sont les effets de l'interactions collembole-champignon mycorrhizien sur la dynamique des métaux et la croissance végétale dans des sols délaissés ?

L'ensemble des chapitres de résultats de la thèse a été schématisé dans la figure 1.10.

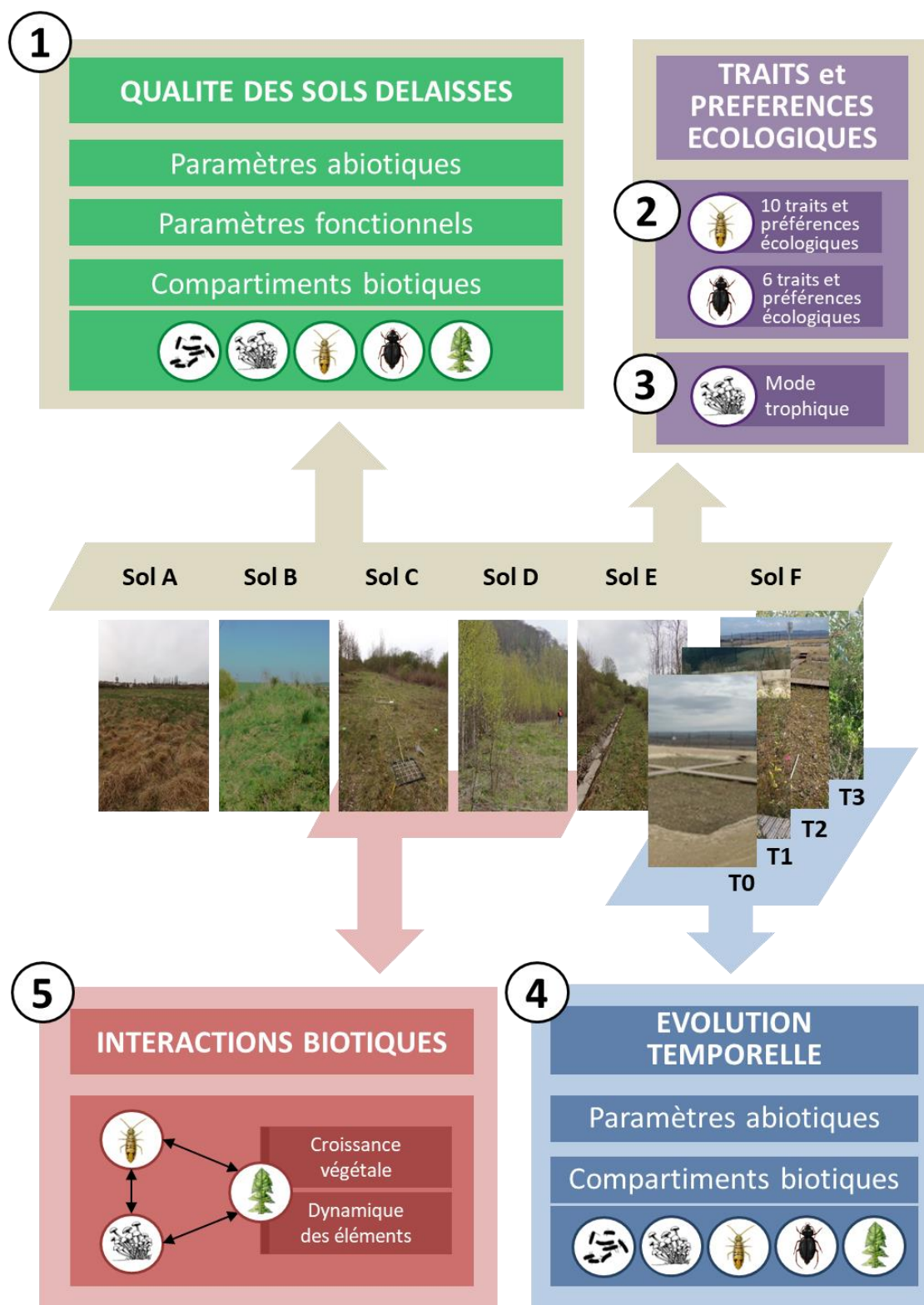


Figure 1.10 : Schéma des différents objectifs de la thèse. [Etudes sur le terrain] **Objectif 1 (chapitre 3)**: Mesurer la qualité des sols délaissés par l'étude des paramètres abiotiques, biotiques (microorganismes, faune et flore) et fonctionnelles ; **Objectifs 2 et 3 (chapitres 4 et 5)**: Etudier les traits et préférences écologiques des collembolles, de la macrofaune (objectif 2) et des champignons (objectif 3) ; **Objectif 4 (chapitre 6)**: Suivre au cours du temps les paramètres abiotiques et biotiques de quatre modalités de Technosols construits ; [Expérimentations en laboratoire] **Objectif 5 (chapitre 7)**: Etudier les effets des interactions biotiques collembolles-champignons mycorhiziens sur la dynamique des métaux et la croissance végétale dans des sols délaissés.

Chapitre 2 :

Matériel et méthodes

I. MATERIEL

I.1. Les sols étudiés

Dans ce travail de thèse, six sols anthropisés délaissés situés dans le nord-est de la France et caractérisés comme des milieux ouverts ont été étudiés (Figure 2.1). Le premier sol présenté est un sol construit, à des fins expérimentales, sur la commune de Jeandelaincourt. Ce sol présente différentes modalités correspondant à des compositions en matériaux différentes. De plus, il a été étudié au cours du temps, à 4 dates différentes. Ainsi, la première partie présentant les sols étudiés se focalisera sur ces parcelles expérimentales de Jeandelaincourt. Les cinq autres sols étudiés, présentant des historiques et caractéristiques contrastés, ont été prélevés une seule fois. Un sol construit (mélange de compost et de terre traité par thermo-désorption), un sol de site d'installation de stockage de déchets inertes, deux sols provenant d'anciens sites de cokerie et un sol issu d'un site de bassin à boue sidérurgique ont été étudiés et seront présentés dans la deuxième partie.

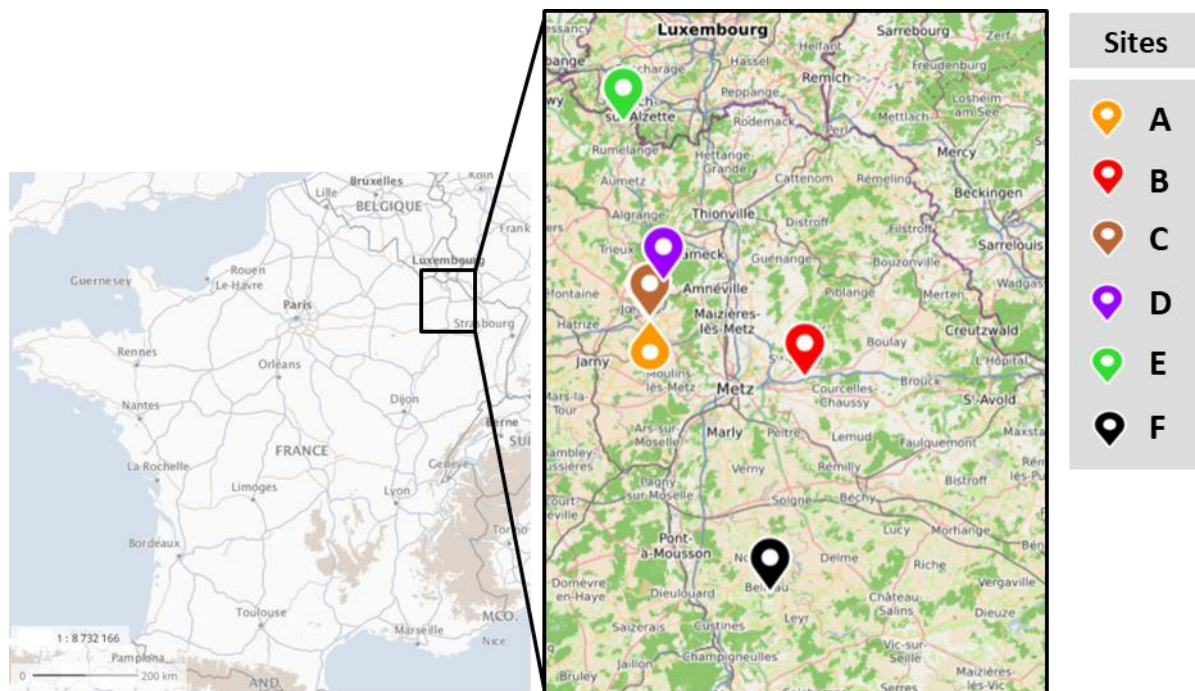


Figure 2.1 : Cartographie des différents sites étudiés. [A]: Biotechnosol (situé à Homécourt); [B]: Retonfey; [C]: Homécourt; [D]: Moyeuvre-Petite; [E]: Micheville; [F]: Jeandelaincourt.

I.1.1. Les parcelles expérimentales de Jeandelaincourt

Dans le cadre du projet Lorver, qui a pour objectif la valorisation de sites dégradés et de sous-produits industriels en Lorraine par la production de biomasse végétale non alimentaire, des parcelles expérimentales de sols construits ont été réalisées dans la commune de Jeandelaincourt en juin 2013 (Figure 2.2). Les sols ont été construits sur un site d'enfouissement de déchets dangereux de Suez RR IWS Minerals France SITA FD. Le sol prélevé sur ce site de Jeandelaincourt est nommé « sol F » dans ce manuscrit de thèse.



Figure 2.2 : [En haut] Photographies aériennes des parcelles expérimentales de Jeandelaincourt lors de la construction en 2013, en 2015 et en 2017. [En bas] Photographie panoramique du site en automne 2014. *E:938477 N:6864617, projection Lambert 93; sources : Geoportail et Google map.*

- **Les 4 modalités du Technosols**

Sur une surface totale de 900 m², 4 parcelles de 225 m², elles-mêmes sub-divisées en quatre sous-parcelles, ont été mises en place sur une hauteur de 1,5 m. Ces parcelles sont équipées d'un système de drainage pour la collecte des lixiviats. Au fond de chaque parcelle, un géotextile a été placé pour récupérer les lixiviats sans perte des matériaux. A la base de chaque parcelle, 50 cm de matériaux drainant (gravier roulé de 16-32 mm) ont été placés, surmontés de 80 cm de terre appelée « terre de biopile » provenant de Suez RR IWS Minerals France (anciennement SITA-FD). Cet horizon est surmonté d'un horizon de surface de 50 cm d'épaisseur suivant quatre modalités

de mélange : 100% de terre de biopile (parcelle TB) ou 95% de terre de biopile mélangée avec 3% de boue acide et 2% de boue basique contaminées en ETM (parcelle TB2NM), ou le même mélange ayant reçu soit un inoculum mycorhizien seul (parcelle TB2M), soit ce même inoculum et 3% de biochar (parcelle TB3M) (Figure 2.3).

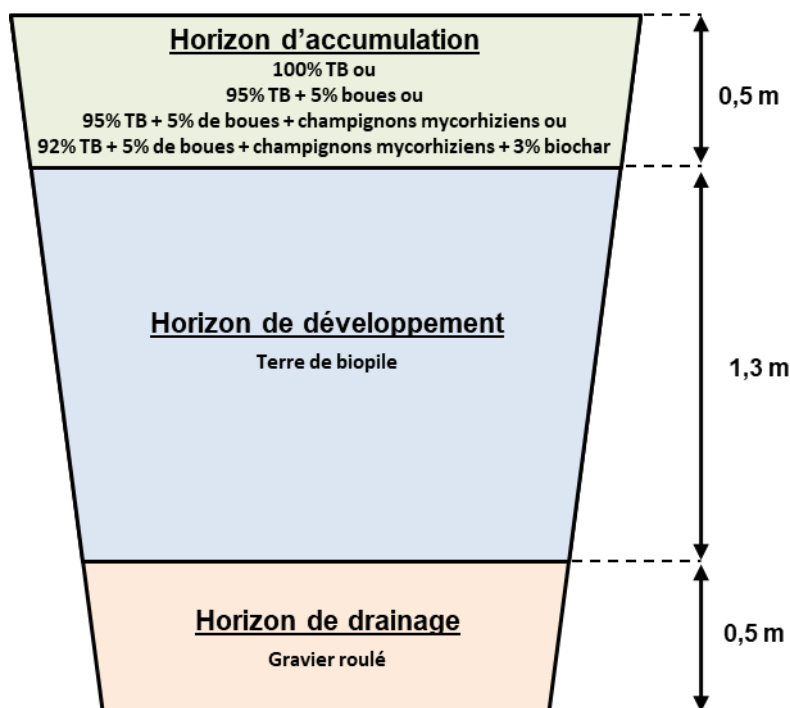


Figure 2.3 : Schéma du profil de reconstruction de sol sur les parcelles de Jeandelaincourt. TB=Terre de Biocentre, BA=Boue acide, BB=Boue basique. Source : document Lorver du 15/10/2013.

L'inoculation a été réalisée avec un champignon endomycorhizien *Rhizophagus irregularis* (21 g d'inoculum solide à 4000 spores.g⁻¹ ; ENDO4000 PROBIOGREEN) pour le chanvre. Pour le peuplier, l'inoculation a été réalisée avec *Rhizophagus irregularis* dans les mêmes quantités que pour les cultures de chanvre, en association avec un champignon ectomycorhizien, *Pisolithus tinctorius* (21 mg d'inoculum solide à 4.10⁶ spores.g⁻¹ ; MYC500® AGRI-BIOTECH). Les inoculums ont été dosés afin d'obtenir 84000 spores, par sous-parcelle, pour chaque champignon.

Encadré 2.1 : La terre de biopile

Les terres de biopile (ou biotertre) sont des terres décontaminées par la technologie Biocentre®. Cela consiste en un traitement hors site, des sols pollués avec des composés organiques. Les sols sont placés sous bâche sous aération forcée continue (par aspiration et insufflation simultanées). Cette technique biologique fait appel à l'action des micro-organismes indigènes qui minéralisent ces molécules, favorisée par le système d'insufflation d'air (bio-stimulation). Le préstockage, le pré-traitement mécanique et le traitement se font sous hangar (www.selecdepol.fr).

• Les plantations

Les quatre parcelles sont espacées de 7 m. Chaque parcelle carrée est découpée en quatre sous-parcelles de 6 m de côté, séparées d'un espace de 3 m. Sur ces sous-parcelles de 36 m², quatre type de plantes ont été cultivées de manière aléatoire: de l'ortie (*Urtica dioica* ; CTA²⁵, Belgique), du chanvre (*Cannabis sativa* L., variété Futura 75, Chanvier de l'Est), du peuplier (*Populus trichocarpa* × *P.maximowiczii* – pépinière Vandromme) et l'hyperaccumulateur de métaux *Noccaea caerulescens* (population de Gange (Gonneau *et al.*, 2014)) (Figure 2.4).

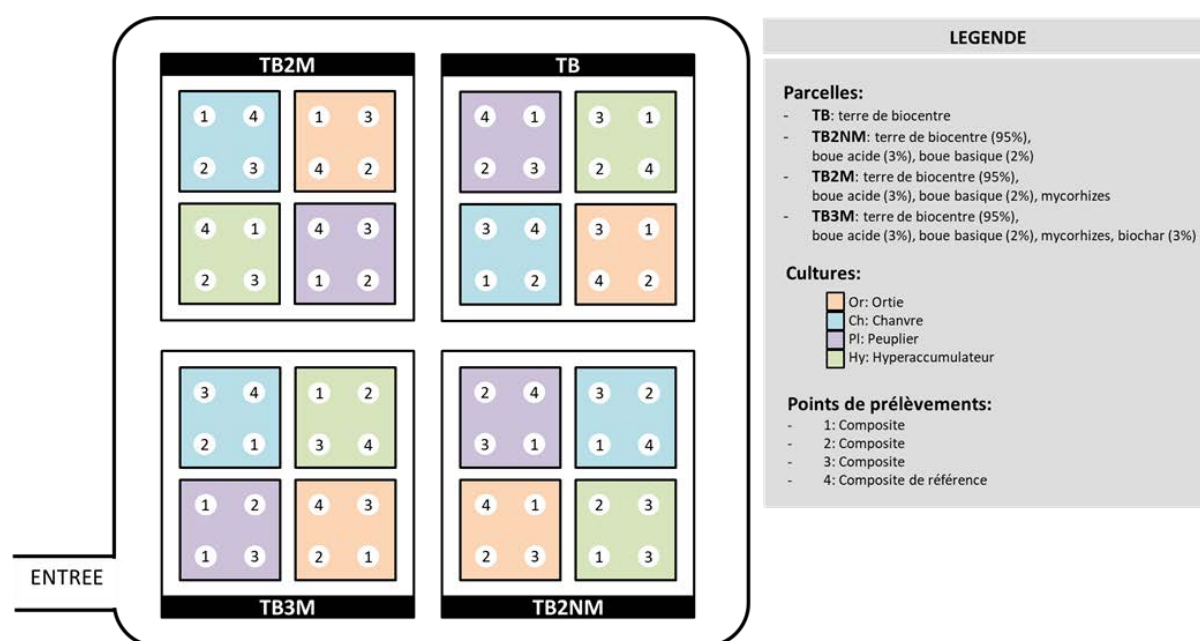


Figure 2.4 : Plan des parcelles et des points d'échantillonnages sur chaque modalité du Technosol de Jeandelaincourt. Modifiée d'après une figure de C.Sirguez et D.Blaudez.

• L'historique du Technosol construit

Les parcelles ont été mises en place en juin 2013. Le premier prélèvement considéré comme témoin initial « T0 » a été réalisé un mois après l'installation des parcelles, le 11/07/2013. La première plantation de peupliers, chanvre et orties a été réalisée le 25/07/2013, en même temps que l'inoculation du champignon mycorhizien. Malgré l'installation d'un système d'arrosage, un défaut de développement de la végétation a été mis en évidence sur les parcelles TB2NM, TB2M et TB3M laissant supposer une phytotoxicité des mélanges, notamment liée à une forte salinité. Au printemps 2014 (le 17/04/2014), une nouvelle plantation de peupliers, chanvres, orties et de

²⁵Centre des technologies agronomiques

l'hyperaccumulateur de métaux a été réalisée. Ce jour-là, 42 boutures de peupliers âgées de 1 an ont été transplantées sur chaque sous-parcelle. Le chanvre a été semé à la volée à raison d'une densité de 45 g par hectare soit 162 mg par sous-parcelle, ce qui correspond à une culture agricole classique (GAB²⁶ - fiche Chanvre). Les cultures de chanvre et de peuplier ont été inoculées avec un inoculum mycorhizien sur les parcelles TB2M et TB3M. La terre des quatre modalités du Technosol a été échantillonnée à quatre dates différentes : en juillet 2013 « **T0** » (1 mois après la construction du Technosol), octobre 2014 « **T1** » (16 mois), avril 2015 « **T2** » (22 mois) et en octobre 2015 « **T3** » (28 mois). Des photographies supplémentaires ont été ajoutées en annexe 1.

Dans le cadre de ce travail de thèse, **seules les 4 sous-parcelles de culture de peuplier ont été étudiées** (exemple de l'évolution de la parcelle « peuplier », Figure 2.5).

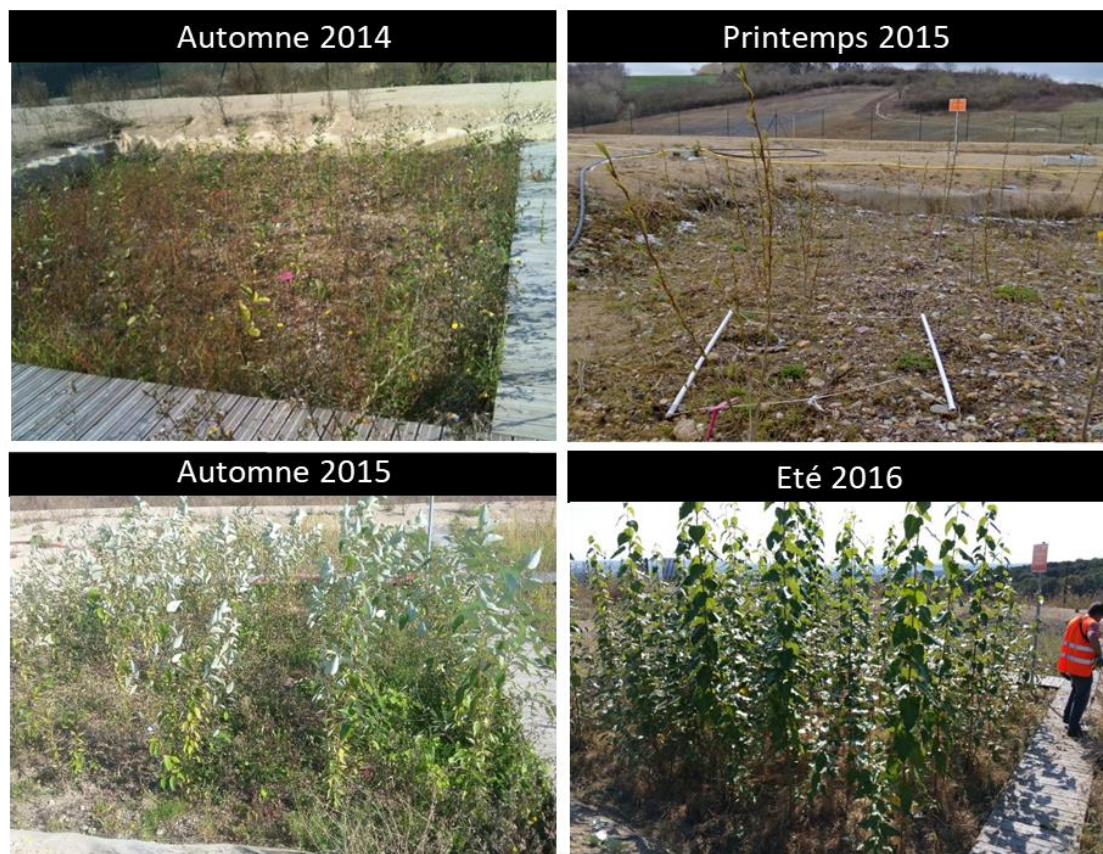


Figure 2.5: Parcelle « TB Peuplier » en automne 2014, printemps 2015, automne 2015 et été 2016.

²⁶ Groupement d'agriculteurs biologiques

I.1.1. Les cinq autres sols de sites de délaissés étudiés

Avec le site de Jeandelaincourt, six sites délaissés ont été étudiés. Les autres sites étudiés ont été choisis afin d'avoir un panel de différents types de site délaissés. Ainsi, **trois Anthrosols construits** et **trois Anthrosols artificiels** ont été sélectionnés. Les Anthrosols construits sont représentés par : un sol contaminé en ETM (site de Jeandelaincourt), un sol construit à partir de sous-produits industriels non-contaminés et un sol construit avec des granulats (matériaux non dangereux issus du BTP²⁷). Le nord-est de la France ayant un lourd passé industriel, de nombreuses friches sont délaissées (8000 ha en Lorraine) avec une contamination modérée et une faible fertilité. Ainsi, les Anthrosols artificiels sont représentés par deux sols d'anciennes cokeries et un ancien bassin à boue d'industrie sidérurgique. Ces sites ont fait l'objet de prélèvements de terre en avril 2015. Les sols prélevés sont détaillés ci-dessous.

²⁷ BTS : Bâtiment et travaux publics

Le sol de Biotechnosol (Figure 2.6), nommé sol « A » : le sol étudié est un *Spolic Garbic Technosol* (IUSS Working Group WRB, 2014) (E:918202 N:6905686²⁸). Il a été prélevé sur la station expérimentale du Groupement d'intérêt scientifique sur les friches industrielles (GISFI) à Homécourt (54), et a été mis en place dans le cadre du projet Biotechnosol-GESSOL (Cortet *et al.*, 2010). Ce site appartient à l'Etablissement public foncier de Lorraine (EPFL) qui loue le terrain au GISFI. Au niveau réglementaire, il s'agit d'une ICPE car les sous-produits industriels sont considérés comme des déchets. Ce projet visait à réhabiliter un terrain de friche industrielle résultant de la cessation d'activité d'un complexe sidérurgique, par la construction de sol à partir de déchets. Il s'agit d'un Technosol, construit en 2007, et constitué de compost (0,10 m) comme horizon de croissance, de mélange de sous-produit papetier/terre industrielle traitée par désorption thermique (1,0 m) comme horizon de développement et enfin d'un horizon hydrique de sous-produit papetier pur (0,40 m). Des photographies du site avant et après réhabilitation sont en annexe 2.

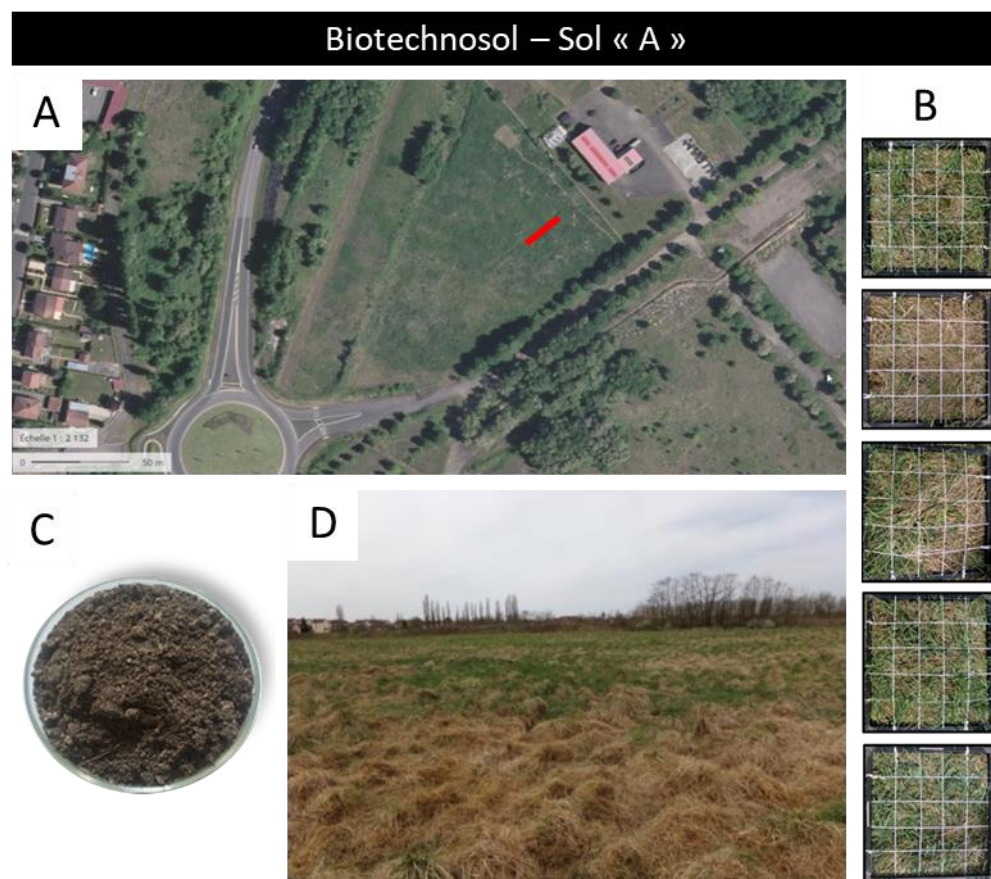


Figure 2.6 : Photographies du site et du sol de « Biotechnosol ». [A] Vue aérienne du site (1:2132), [B] photographie des quadrats de prélèvement, [C] photographie du sol non tamisé, prélevé à 10 cm de profondeur, [D] photographie du site. La barre rouge représente le transect de prélèvement de 20 m.

²⁸ Projection Lambert 93 - m

Le sol de Retonfey (Figure 2.7), nommé sol « B » : le sol étudié est un *Skeletal Technosol* (E:942352 N:6897630). D'anciens terrains en friche et inemployés appartenant à la commune de Retonfey (57) ont fait l'objet d'une Installation de stockage de déchets inertes (ISDI) réglementée, qui était exploitée par la société EUROGRANULATS. Comme les matériaux sont des déchets au sens réglementaire, ces sites sont également des ICPE. Les terrains ont été requalifiés en créant quatre tertres composés de granulats (voir Figure 2.7.A). Les granulats sont des fragments de roche (taille <125 mm), entrant dans la composition des matériaux destinés à la fabrication d'ouvrages de travaux publics, de génie civil et de bâtiment. L'ensemble du site fait l'objet de plantations par un paysagiste. Toutefois, une des quatre parcelles (parcelle sud-est) n'a pas été aménagée, favorisant la reprise de la végétation spontanée sur les terres d'apports. C'est cette parcelle qui a été étudiée dans ce travail de thèse.

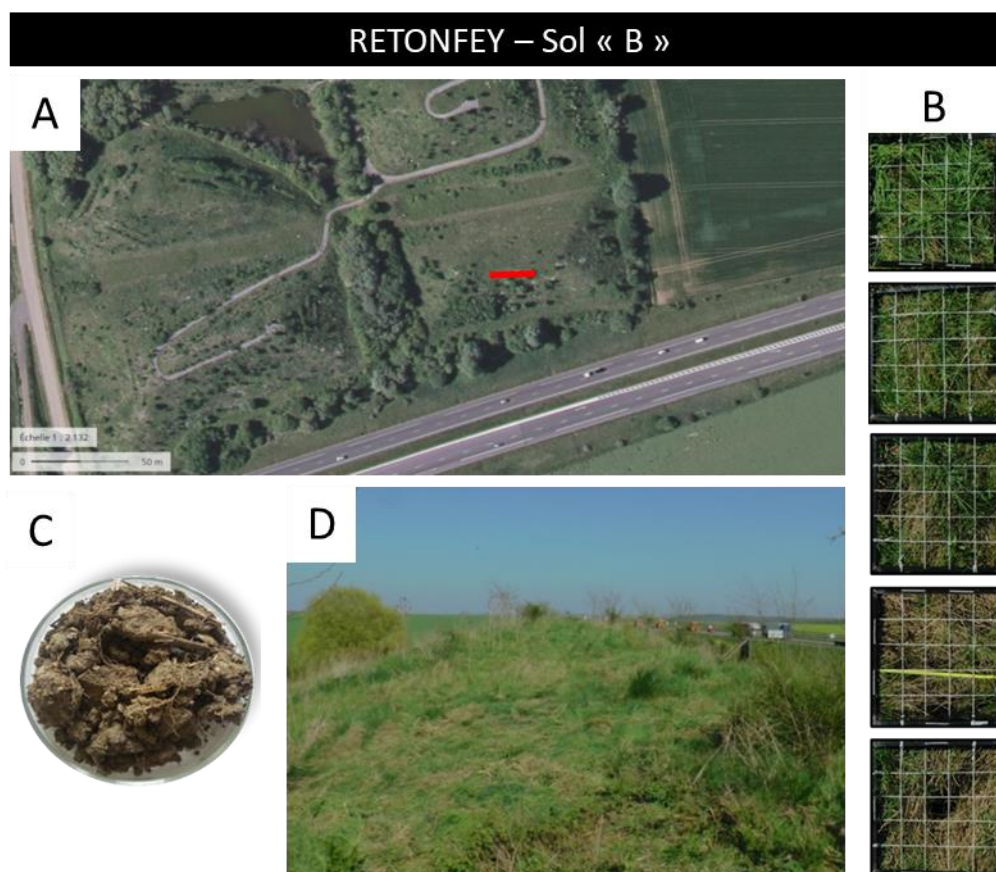


Figure 2.7 : Photographies du site et du sol de « Retonfey ». [A] Vue aérienne du site (1:2132), [B] photographie des quadrats de prélèvement, [C] photographie du sol non tamisé, prélevé à 10 cm de profondeur, [D] photographie du site. La barre rouge représente le transect de prélèvement de 20 m.

Le sol d'Homécourt (Figure 2.8), nommé sol « C » : le sol étudié est un *Spolic Technosol* (E:918487 N:6905891). Il s'agit du sol développé sur le site d'une ancienne cokerie sur la station expérimentale du GISFI. Le GISFI est locataire de ce terrain qui appartient à l'EPFL. Ce site est celui d'une ancienne cokerie qui a été exploitée par la Société SACILOR de 1922 jusqu'au début des années 1980 sur le territoire de la commune d'Homécourt. L'activité a définitivement cessé en 1980 et les infrastructures ont été démantelées en 1984 et 1985. De nombreuses études ont été réalisées sur ce site et des travaux de traitement de la pollution sur certaines zones ont été menés dans les années 2000. L'étude diagnostique de cette ancienne cokerie a fait apparaître que 9 ha sur 30 sont pollués par des métaux, cyanures et HAP. Le site a été découpé en plusieurs zones en fonction des activités passées. Ces zones sont utilisées par le GISFI pour différents projets de recherche, et font partie du réseau SAFIR²⁹ de l'ADEME. Bien que l'ancien exploitant ait traité une partie du site, la majeure partie de la friche est soumise à l'atténuation naturelle. Les prélèvements pour cette étude ont été réalisés dans cette zone soumise à l'atténuation naturelle.

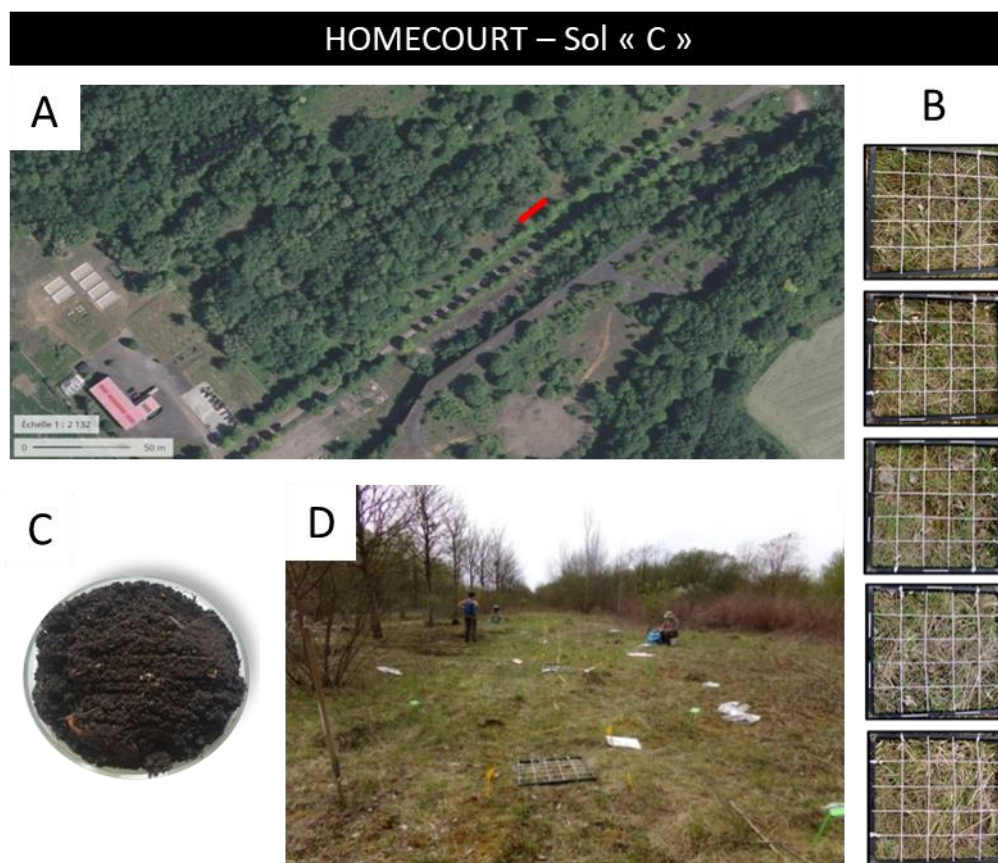


Figure 2.8 : Photographies du site et du sol de « Homécourt ». [A] Vue aérienne du site (1:2132), [B] photographie des quadrats de prélèvement, [C] photographie du sol non tamisé, prélevé à 10 cm de profondeur, [D] photographie du site. La barre rouge représente le transect de prélèvement de 20 m.

²⁹ SAFIR : Sites ateliers français pour l'innovation et la recherche

Le sol de Moyeuve-Petite (Figure 2.9), nommé sol « D » : le sol étudié est un *Spolic Technosol* (E:920222 N:6911528). Il est situé sur la commune de Moyeuve-Petite (57), près du cours d'eau du Conroy (environ 70 m de distance). Ce site appartient à Arcelor Mittal Real Estate France et est constitué de crassiers, d'une longueur de 2 fois 1,5 km environ et d'une largeur de 200 m qui ont alimenté des bassins à boues par simple déversement des résidus sidérurgiques. Ces bassins ont été utilisés pour le stockage de matériaux divers issus des activités minières et industrielles de la région. Ces boues ont été déposées depuis les années 1880 jusqu'en 1981, arrêt qui faisait suite à la cessation d'activité des hauts-fourneaux de Joeuf et de Moyeuve. Les bassins étaient alimentés en boues depuis le haut du crassier. Actuellement, les bassins ne font l'objet d'aucun usage. Suite aux demandes de la Directions régionales de l'environnement, de l'aménagement et du logement (DREAL), Arcelor Mittal Real Estate France, dernier exploitant de ces boues, envisage leur recouvrement dans un délai de 5 ans.

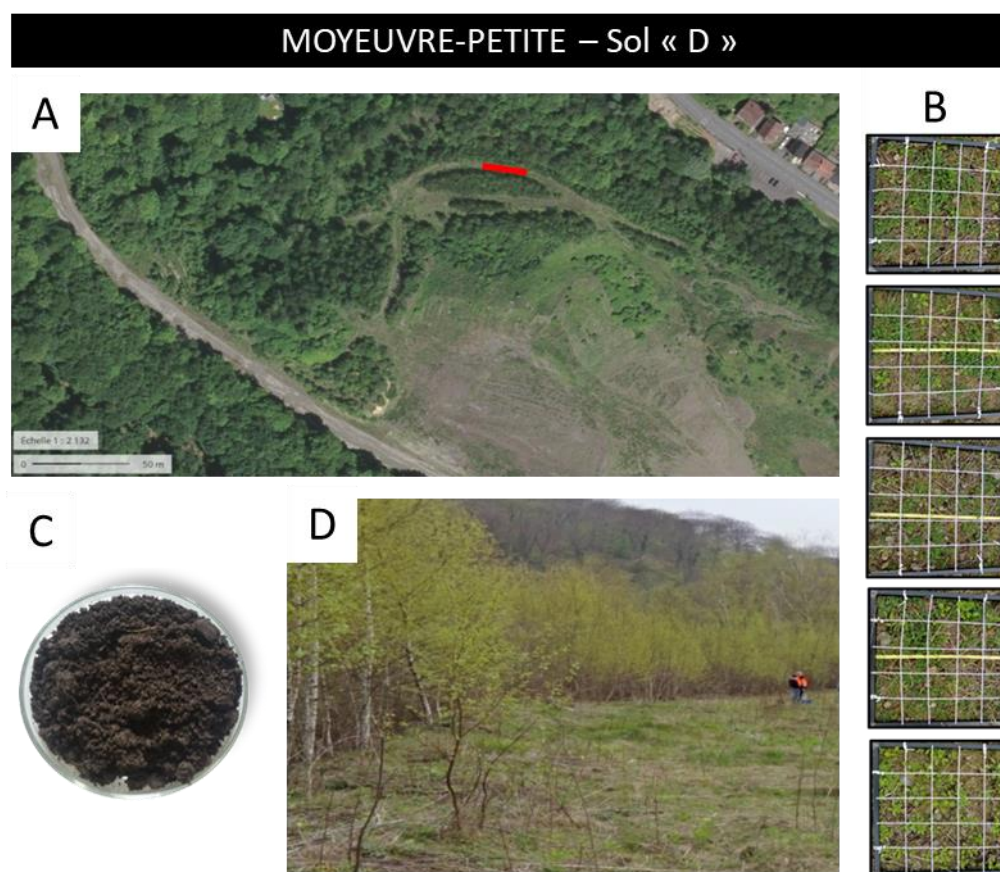


Figure 2.9 : Photographies du site et du sol de « Moyeuve-Petite ». [A] Vue aérienne du site (1:2132), [B] photographie des quadrats de prélèvement, [C] photographie du sol non tamisé, prélevé à 10 cm de profondeur, [D] photographie du site. La barre rouge représente le transect de prélèvement de 20 m.

Le sol de Micheville (Figure 2.10), nommé sol « E » : le sol étudié est un *Spolic Technosol* (E:942262 N:6897475). Il a été prélevé sur le site de l'ancienne cokerie de Micheville (57), appartenant à Arcelor Mittal Real Estate France. Cette cokerie a été créée en 1872. Elle s'étendait sur les communes de Villerupt, Russange, Rédange et Audun-le-Tiche dans la vallée de l'Alzette, près de la frontière luxembourgeoise. Elle représentait une surface d'environ 180 hectares. La cokerie de Russange a été installée en 1950 sur le carreau d'une ancienne mine à ciel ouvert partiellement remblayée en trois terrasses de dimensions inégales. Toute activité cokière a été stoppée en 1975. Depuis, le terrain est resté à l'état de friche et reconquis par la végétation naturelle.

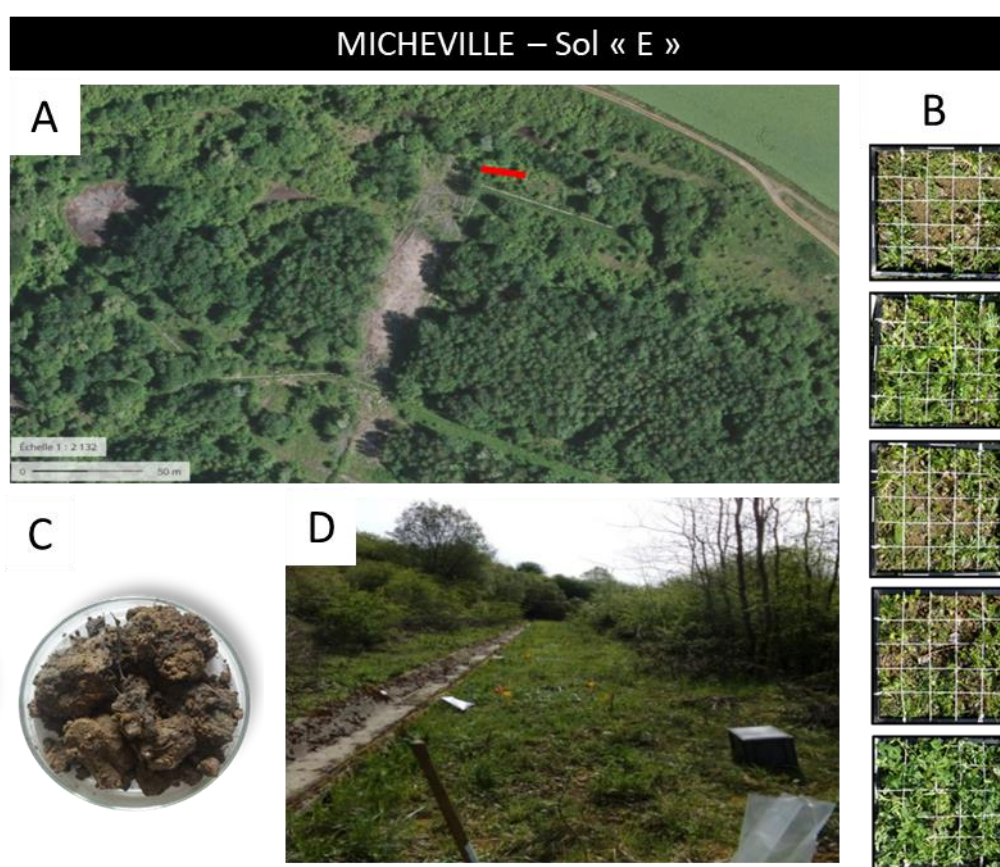


Figure 2.10 : Photographies du site et du sol de « Micheville ». [A] Vue aérienne du site (1:2132), [B] photographie des quadrats de prélèvement, [C] photographie du sol non tamisé, prélevé à 10 cm de profondeur, [D] photographie du site. La barre rouge représente le transect de prélèvement de 20 m.

I.2. Les organismes employés

Comme présenté précédemment, six sols ont été choisis dans des études *in situ*. D'autres expérimentations ont été réalisées, non plus sur le terrain, mais en laboratoire. Pour cela, des organismes appartenant à trois groupes biotiques différents ont été choisis car largement retrouvés dans les sols délaissés étudiés. Ainsi, un collembole, un champignon mycorhizien à arbuscule et une plante herbacée ont été employés lors d'expérimentation en mésocosmes, dans le but d'étudier les interactions biotiques et les vertus fonctionnelles de ces interactions.

I.2.1. Le collembole *Sinella caeca*

Sinella caeca (Schött, 1896) (Figure 2.11) est un collembole eu-édaphique (c'est-à-dire qui vit en profondeur dans le sol, entre 5 et 10 cm environ de la surface) et synanthropique, c'est-à-dire qu'elle est associée aux activités humaines (Hopkin, 2007). Cette espèce a été choisie car plusieurs études ont déjà mis en évidence des interactions avec des champignons mycorhiziens à arbuscules (par exemple, Posta et Bakonyi 2008; Seres *et al.*, 2006; Seres *et al.*, 2007; Siddiky *et al.*, 2012). Cette espèce est synanthropique, ce qui suppose qu'elle supporte des conditions éloignées des milieux naturels, comme peuvent avoir les sols anthropisés délaissés. De plus, son élevage est facile en laboratoire, même si son taux de reproduction est plus faible que d'autres espèces fréquemment utilisées en laboratoire comme *Folsomia candida*.



Figure 2.11 : Photographie à la loupe binoculaire (×10) de *Sinella caeca* au-dessus d'une spore de champignon mycorhizien *Funneliformis mosseae* BEG69. Source : Audrey Spataro.

Sinella caeca* (Schött, 1896)*Taxonomie :**

Arthropoda, Hexapoda, Collembola, Entomobryomorpha, Entomobryidae, Sinella, caeca (Hopkin, 2007).

Synonyme :

Entomobrya caeca Schott, 1896
Sinella tenebricosa Folsom, 1902

Description :

Taille du corps de 1,5 mm. Blanc présentant parfois des tâches rosée-marrons. Ocelles absents. Présence d'une furca, organe saltatoire des collemboles.

Distribution et écologie :

Cette espèce a été retrouvée dans des serres (en Norvège) et des pots de fleurs à l'intérieur et à l'extérieur des habitations dans divers pays et récemment retrouvée dans du compost (en Finlande et en Suisse). Cette espèce est cosmopolite.

I.2.2. Le champignon mycorhizien à arbuscules *Funneliformis mosseae* BEG69

La souche BEG³⁰69 du champignon mycorhizien à arbuscules *Glomus mosseae* (Nicolson et Gerd.) qui a été renommé *Funneliformis mosseae* (Schüßler et Walker, 2010) a été utilisée dans cette thèse pour les expériences en mésocosmes (Figure 2.12). Cette souche, aussi nommée P2, a été isolée d'un sol pollué par des ETM (Weissenhorn *et al.*, 1993). Elle a fait l'objet de nombreux travaux sur le transfert d'éléments comme le cadmium et le zinc du sol à la plante par ce type de champignons (Redon *et al.*, 2009). Elle est conservée depuis son isolement et multipliée au laboratoire sous forme de cultures de poireaux mycorhizés sur un substrat contaminé.

³⁰ BEG : Banque européenne des Glomales

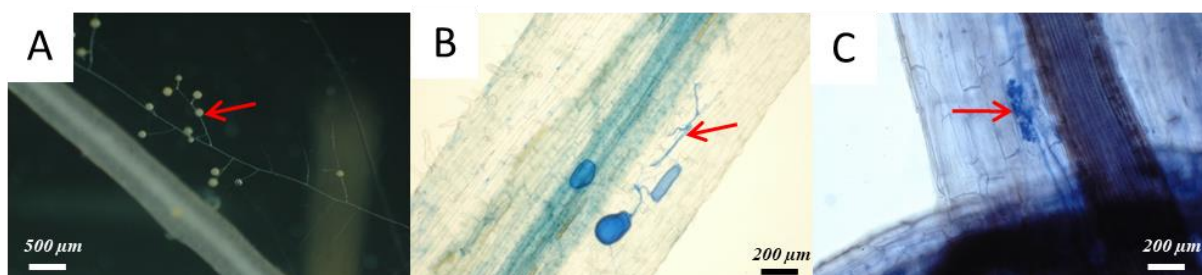


Figure 2.12 : Photographie au microscope optique de [A] spores de *F.mosseae* BEG69, [B] d'hyphes de *F.mosseae* BEG69 à l'intérieur d'une racine et [C] un arbuscule de *F.mosseae* BEG69. Sources : C.Berthelot

Funneliformis mosseae (T.H. Nicolson et Gerd.) BEG69

Taxonomie : Eukaryota; Fungi; Mucoromycota; Glomeromycotina; Glomeromycetes; Glomerales; Glomeraceae; *Funneliformis* (anciennement *Glomus*), *mosseae*.

N°accession : U96141 (Vandenkoornhuyse et Leyval, 1998)

Origine : Souche issue d'un champ agricole contaminé par les ETM situé à Noyelles-Godault. La pollution métallique est issue de retombées atmosphériques provenant de la fonderie de Metaleurop pendant plus de 60 ans.

Hôte : *Allium porrum* (L.) par culture piège (Weissenhorn *et al.*, 1993)

I.2.3. La plante herbacée *Lolium multiflorum*

Le ray-grass d'Italie, *Lolium multiflorum* (Lamk) var. Podium, est utilisé dans les expériences en mésocosmes (Figure 2.13). Le ray-grass est une graminée ayant un fort potentiel pour la revégétalisation des sites contaminés, notamment en ETM (Arienzo *et al.*, 2004). Elle a été décrite comme une plante métallophyte facultative, c'est-à-dire qu'elle peut aussi bien se développer dans un milieu avec ou sans contamination métallique (Smith et Bradshaw, 1979; Vernay *et al.*, 2007). Il est à noter que cette plante n'accumule pas les métaux. Elle est capable d'être en symbiose avec de nombreux champignons mycorhiziens, permettant d'obtenir des taux de colonisation élevés, même sur le terrain (Gamper *et al.*, 2004). Le ray-grass est une plante de choix pour la végétalisation de ces sites, d'autant plus qu'elle produit une biomasse importante rapidement (Vernay *et al.*, 2007). Elle est aussi couramment utilisée comme plante modèle dans les études au laboratoire sur l'écodynamique des contaminants (Guala *et al.*, 2010).



Figure 2.13 : Photographie d'un plant de ray-grass (à gauche) et des parties foliaires, des fleurs et des graines (à droite). Source : <http://fleursauvageyonne.github.io>.

Lolium multiflorum Lamk. var. *Podium*

Taxonomie : *Liliopsida, Poaceae, Lolium, multiflorum.*

Nom commun : Ray-grass d'Italie

Informations :

- Plante annuelle de 0,40 à 1,20 m de haut, glabre, à racine fibreuse
- Tiges assez robustes, dressées ou arquées à la base
- Feuilles nouvelles enroulées par les bords, les caulinaires planes, assez larges.
- Epi très long, assez large, très comprimé

Écologie : Plante prairiale, représentative des pelouses. Largement utilisée dans les champs cultivés comme plante fourragère, elle s'est naturalisée dans toute l'Europe et dans les régions tempérées du globe.

Répartition : Europe ; Asie occidentale ; Afrique septentrionale.

Floraison : Mai-août.

Sources : tela-botanica.org ; Polese, 2007.

II. METHODES

II.1. Méthodes d'échantillonnage *in situ*

Dans le but d'étudier les différents groupes biotiques simultanément, ainsi que les paramètres abiotiques des sols, un **protocole d'échantillonnage spécifique** a été développé. Différents prélèvements ont été réalisés, selon les méthodes classiquement utilisées pour chaque compartiment biotique, en un même point. L'objectif n'est pas de caractériser le sol à l'échelle d'un site mais de prélever au même endroit les différents groupes biotiques, sur différents types de sol délaissés. Pour être plus robuste dans les résultats, plusieurs points d'échantillonnage ont été réalisés pour chaque sol. Au niveau temporel, les six sites ont été prélevés à la même période (avril 2015) tandis que les sols du site de Jeandelaincourt ont été échantillonnés à quatre dates différentes (Tableau 2.1).

Tableau 2.1 : Sols échantillonnés et nombre d'échantillons en fonctions des dates étudiées au cours de la thèse.

	T0 (11/07/2013)	T1 (01/10/2014)	T2 (08/04/2014)	T3 (08/10/2014)
Sols échantillonnés	F	F	A ; B ; C ; D ; E ; F	F
Nombre de point d'échantillonnage	4	4	5 ; 5 ; 5 ; 5 ; 5 ; 4	4

II.1.1. Echantillonnage au cours du temps du site de Jeandelaincourt

Afin de suivre la dynamique d'installation de la biodiversité sur un sol anthropisé, les sols des parcelles expérimentales de Jeandelaincourt ont fait l'objet de 4 échantillonnages : en été 2013, lors de l'installation des parcelles (le 11/07/2013) correspondant au « T0 », en automne 2014 (le 01/10/2014) correspondant au « T1 », au printemps 2015 (08/04/2015) correspondant au « T2 » puis en automne 2015 (le 08/10/2015) correspondant au « T3 ». L'échantillonnage a été réalisé sur les 4 points des sous-parcelles « peupliers » (présentés précédemment en Figure 2.4).

Pour chaque point d'échantillonnage (4 points d'échantillonnage par modalité), les éléments suivants ont été étudiés :

- La diversité végétale
- La densité et la diversité des collemboles
- Les caractéristiques physico-chimiques du sol
- La densité et la diversité des microorganismes
- La densité et la diversité de la macrofaune

Le **relevé floristique** a été réalisé sur l'ensemble de la sous-parcelle. Les **collemboles** ont été prélevés avec un carottier de 5 cm de profondeur et de 5 cm de diamètre (ISO 23611-2, 2006a). Les échantillons de sols pour les **analyses physico-chimiques** et **microbiologiques** sont des échantillons composites issus de 4 sous-échantillons de 10 cm de profondeur, prélevés autour du point d'échantillonnage identifié. La **macrofaune épigée** a été échantillonnée par la technique du pot piège ("pitfall traps" en anglais), nommé également piège Barber (Figure 2.14) pendant 7 jours. Ces pots en plastique, de 6,5 cm de diamètre sont enterrés dans le sol, jusqu'au bord supérieur de façon à créer un puits contenant de l'éthylène-glycol (liquide de conservation) dans lequel les organismes marcheurs vont tomber.



Figure 2.14 : Photographie d'un dispositif d'échantillonnage de la macrofaune épigée par pot piège.
[1]: pot en plastique ; [2]: solution d'éthylène-glycol, [3]: toit de protection.

Sur le site de Jeandelaincourt le prélèvement de la macrofaune n'a pas été réalisé par le prélèvement d'un bloc de sol, comme sur les autres sites, car la méthode est trop destructive sur ce site expérimental. Ainsi, lors des analyses globales (avec les 5 autres sites – Chapitre 3), la densité et la diversité de la macrofaune ont été **modélisées** afin d'y intégrer le sol de Jeandelaincourt. Pour cela, la fonction « imputePCA », de la librairie « missMDA » a permis de calculer les valeurs manquantes de chaque point d'échantillonnage du sol de Jeandelaincourt à partir d'une analyse multivariée de l'ensemble du jeu de données.

II.1.2. Échantillonnage sur les six sites délaissés étudiés (printemps 2015)

Les sols des six sites sélectionnés (Biotechnosol, Retonfey, Homécourt, Moyeuvre-Petite, Micheville et Jeandelaincourt) ont été échantillonnés durant le mois d'avril 2015 (printemps 2015).

L'échantillonnage des sites de Biotechnosol, Retonfey, Homécourt, Moyeuvre-Petite et Micheville a été effectué en réalisant 5 points d'échantillonnage le long d'un transect de 20 m avec 5 m de distance entre chaque point d'échantillonnage (Figure 2.15). Ce protocole d'échantillonnage est réalisé d'après la méthode TSBF (*Tropical Soil Biology and Fertility*) (Anderson et Ingram, 1993).

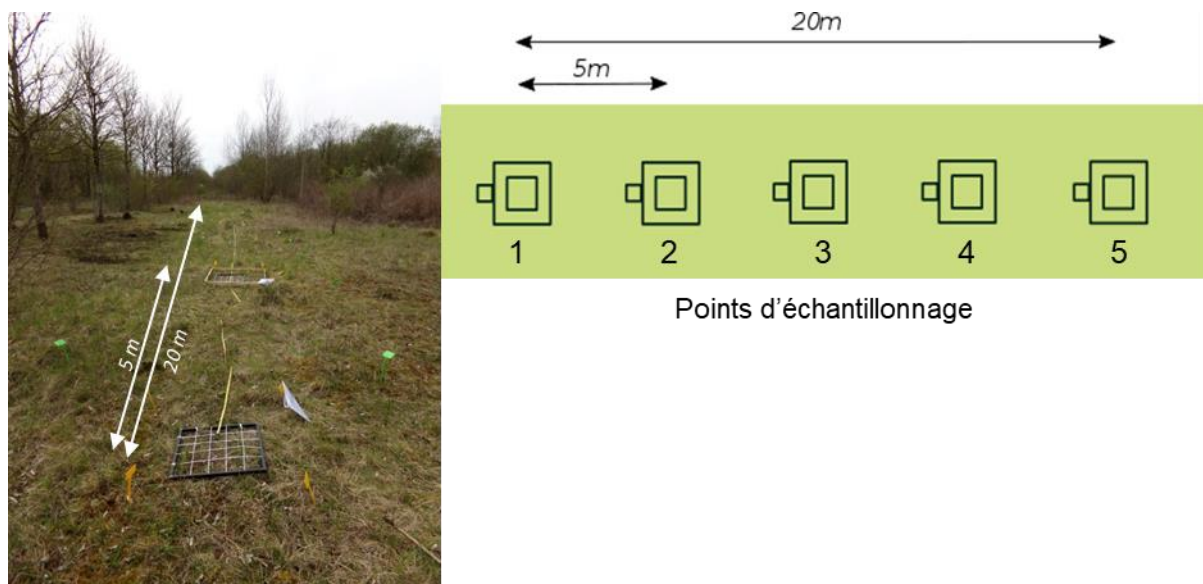


Figure 2.15 : [A gauche] photographie (site de Homécourt en exemple) et [à droite] schéma vue du dessus du transect d'échantillonnage des sols de Biotechnosol, Retonfey, Homécourt, Moyeuvre-Petite et Micheville.

Pour le site de Jeandelaincourt, le transect n'a pas été utilisé car la conformation du dispositif expérimental n'était pas adaptée. L'échantillonnage a consisté en un seul point de prélèvement pour chaque modalité du Technosol (TB, TB2NM, TB2NM et TB3M), sur le point de prélèvement n°4, servant de référence (présenté précédemment en Figure 2.4).

Pour chaque sol et chaque point d'échantillonnage (Figure 2.16), les éléments suivants ont été échantillonnés dans l'ordre suivant, afin de caractériser le sol de la façon la plus complète possible :

- La biomasse et la diversité végétale (quadrats n°2 et 1 respectivement)
- La densité et la diversité des collemboles (quadrat n°3)
- Les caractéristiques physico-chimiques du sol (quadrat n°4)
- La densité et la diversité des microorganismes (quadrat n°4)
- La densité et la diversité de la macrofaune (quadrat n°5)

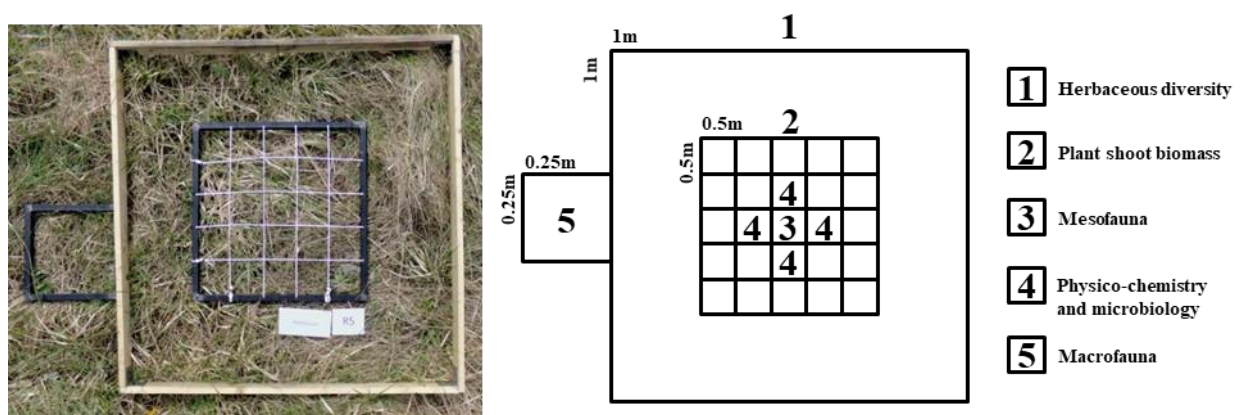


Figure 2.16 : Photographie (à gauche) et schéma (à droite) d'un point de prélèvement. *Quadrat n°1 pour le relevé floristique ; quadrat n°2 pour l'échantillonnage des parties aériennes ; quadrat n°3 pour l'échantillonnage de la mésofaune ; quadrats n°4 pour les échantillonnages de sol pour les analyses physico-chimiques et microbiologiques ; quadrat n°5 pour le prélèvement de la macrofaune.*

Pour chaque point d'échantillonnage, un premier quadrat de 1×1 m (quadrat n°1, Figure 2.16) a été utilisé pour réaliser un **relevé floristique** (Robinson et Lundholm 2012; Prober *et al.* 2015), dans lequel est placé un autre quadrat de 0,5×0,5 m (quadrat n°2, Figure 2.16) pour le prélèvement des **parties aériennes végétales** (Didon et Hansson 2002).

Un prélèvement de 0,1 m de profondeur a été réalisé pour échantillonner les **collemboles**. En effet, plus de 90% des collemboles vivent dans les 10 premiers cm du sol (Fountain et Hopkin, 2004). Ainsi, deux carottiers de 0,05 m de profondeur et de 0,05 m de diamètre sont utilisés l'un sur l'autre pour avoir un prélèvement de 0,1 m de profondeur, dans le quadrat n°3 (Figure 2.16) (ISO 23611-2, 2006a). Deux carottiers ont été utilisés afin d'échantillonner au mieux la communauté de collemboles tout en ayant la même profondeur d'échantillonnage que pour les micro-organismes et les caractéristiques physico-chimiques.

Autour du point d'échantillonnage de la mésofaune, 4 échantillons de 0,1 m de profondeur et de 0,1×0,1 m ont été prélevés et rassemblés pour former un échantillon composite qui a servi à réaliser les **analyses physico-chimiques et microbiologiques** (quadrat n°4, Figure 2.16).

La macrofaune est échantillonnée par tri manuel d'un bloc de sol de 0,25×0,25×0,30 m (quadrat n°5, Figure 2.16), adjacent au quadrat n°1, selon la méthode TSBF, modifiée pour les régions tempérées (ISO 23611-5, 2011). Le bloc de sol n'a pas pu être prélevé dans le quadrat n°1 car cette échantillonnage nécessite un minimum de perturbation du milieu afin d'éviter la fuite des animaux.

II.2. Protocoles des expériences en mésocosmes

Deux expériences en mésocosmes ont été réalisées pour étudier les interactions biotiques entre un collembole, un champignon mycorhizien à arbuscules et une plante herbacée. Ces expériences ont été menées avec deux des sols étudiés sur le terrain et ayant des caractéristiques contrastées.

II.2.1. Protocole de l'expérience 1 : interactions biotiques selon différentes conditions expérimentales

Dans la première expérience, nous avons étudié cette interaction en faisant varier la densité racinaire, par l'intermédiaire de la taille des pots, et le temps de contact entre les collemboles et les plantes mycorhizées. La mycorhization est connue pour améliorer la nutrition minérale des plantes en explorant le sol au-delà de la zone d'appauvrissement racinaire (Jakobsen *et al.*, 1992). La densité racinaire dans les pots est donc un paramètre important à prendre en compte. De plus, les interactions biotiques sont dépendantes du temps de contact, ce qui a amené à tester deux temps d'interactions.

II.2.1.1. Design et dispositifs expérimentaux

• Design expérimental

L'expérience a été réalisée avec le ray-grass inoculé par le champignon mycorhizien *Funneliformis mosseae* BEG69 et cultivé sur le sol d'Homécourt (zone soumise à l'atténuation naturelle présentée précédemment) en pots de deux tailles différentes (1L et 3L) sans collembole ou avec ajout de 30 collemboles (*Sinella caeca*) (Figure 2.17). L'expérience a été réalisée avec ajout de collemboles à 2 temps différents pour évaluer l'influence de la durée de l'interaction collemboles-mycorhizes (1 ou 1,5 mois). Pour cela, les collemboles ont été ajoutés 15 jours ou 1 mois après la plantation du ray-grass. Les animaux n'ont pas été inoculés au moment de la plantation pour éviter que les spores de champignons mycorhiziens soient consommées avant germination. L'expérience a duré au total 2 mois.

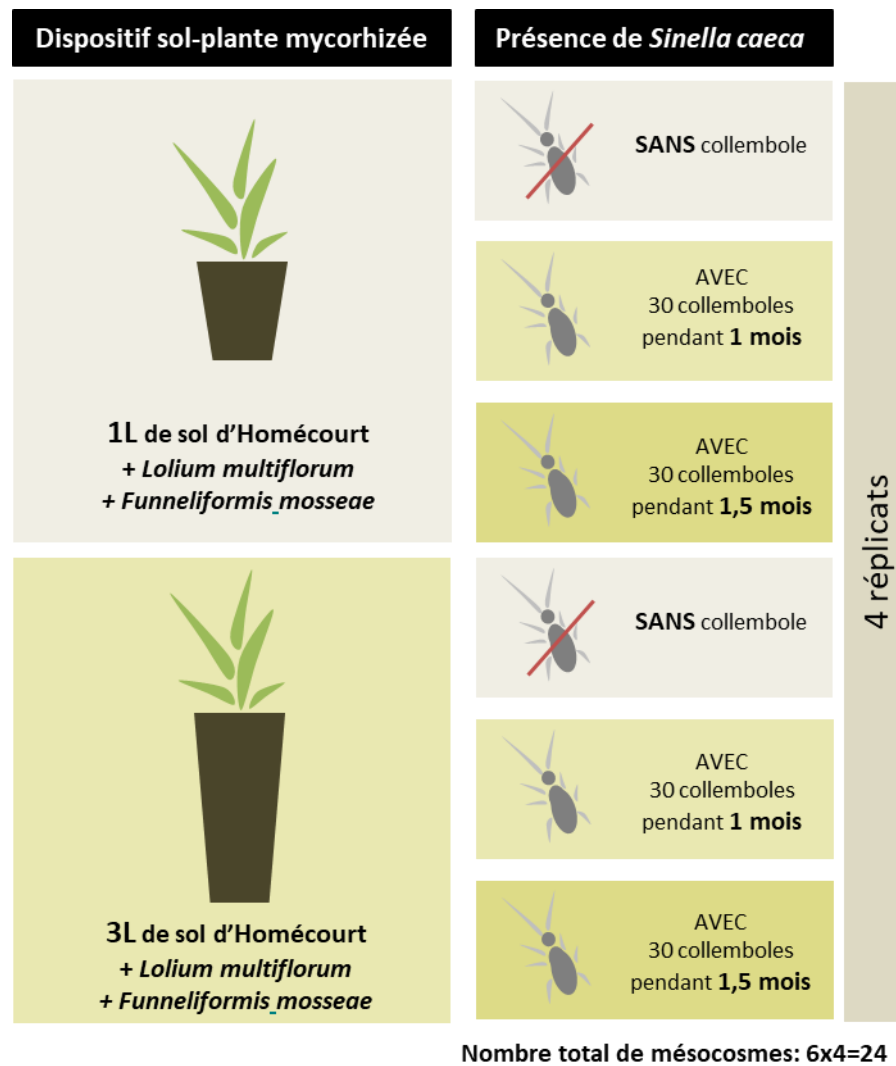


Figure 2.17 : Plan de l'expérience n°1 sur les interactions Plante-Mycorhizes-Collemboles en fonction du volume de sol et de la durée d'interaction.

- **Dispositifs expérimentaux**

Les dispositifs sont des pots en plastique de **1L ou 3L** (Figure 2.18), dans lesquels sont placés des sachets plastiques transparents. Ces sachets sont remplis avec environ exactement 1000 g ou 2500 g de sol séché à l'air, tamisé à 2 mm, non stérilisé. Les sachets dépassent du pot à une hauteur d'environ 20 cm afin d'éviter la fuite des animaux introduits et de permettre le support des feuilles de ray-grass.

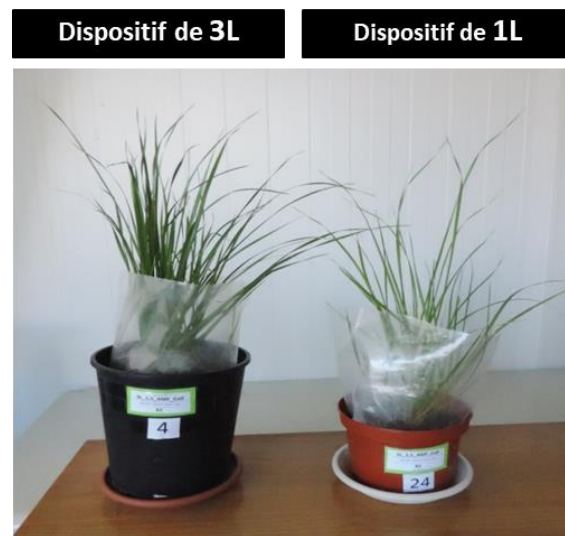


Figure 2.18 : Photographie des 2 dispositifs (3L et de 1L) après 2 mois de culture.

Les dispositifs sont placés dans des chambres de cultures (Figure 2.19) selon les conditions détaillées dans la partie II.2.3.



Figure 2.19 : Photographie des dispositifs de 1 et 3L pour l'expérience n°1 dans la chambre de culture.

II.2.1.2. Organismes introduits

- **Germination des graines et plantation de *Lolium multiflorum*.**

Des graines de *Lolium multiflorum* ont été placées dans de la vermiculite autoclavée et abondamment arrosée à l'eau distillée. Elles ont été mises à germer à température ambiante, dans le noir durant 3 jours. Cinq graines germées, ayant environ la même taille, sont ajoutées par pot, mais seulement quatre plantes sont conservées 2 jours après.

- **Inoculation avec les spores du champignon mycorhizien**

Les spores du champignon mycorhizien *Funneliformis mosseae* P2 (BEG69) sont issues de cultures de poireau (*Allium porrum* L.), réalisées dans un mélange à 1:1 (m/m) de sol contaminé de Noyelles-Godault (Weissenhorn *et al.*, 1993) et de Terragreen (American aluminum oxide, oil-dry U.S. special, type III R, 0.125 mm; Lobbe Umwelttechnik). Pour extraire les spores, 10 g de substrat contenant des racines sont placés dans 50 mL de solution de glucose à 500 g.L⁻¹ (Walker *et al.*, 1982). Le mélange est vigoureusement agité à la main pendant 3 minutes environ, puis centrifugé à froid à 2500 rpm pendant 4 min. Le surnageant est vidé au-dessus d'un tamis fin (50 µm) et les spores sont récupérées avec un filet d'eau distillée dans une boîte de Pétri contenant du papier absorbant afin de maintenir une humidité élevée. Les spores sont récupérées à l'aide de pinces sous loupe binoculaire et placées dans une seconde boîte de Pétri contenant du papier absorbant humide et stockées à 4°C. Les spores employées sont extraites, selon ce protocole, au plus tard l'avant-veille de l'inoculation du champignon mycorhizien. L'inoculation du champignon mycorhizien s'effectue à T₀, lorsque les 5 graines germées sont plantées dans le sol (dont seulement 4 seront conservées). Pour cela, **200 spores** sont ajoutées, par pot, directement en contact avec les jeunes racines en les décollant du papier filtre grâce un filet d'eau distillée.

- **Acclimatation et introduction des collemboles**

Les collemboles sont issus d'un élevage réalisé dans les conditions précisées dans la norme ISO 11267 (2014). **Trente collemboles**, de taille équivalente, sont prélevés et placés dans un pilulier de 30 mL contenant 2 g de sol humidifié à 80% de la capacité de rétention en eau du sol. Ils sont ensuite placés dans la chambre de culture pendant 7 jours, sans être nourris, afin d'être acclimatés aux conditions de cultures. Les collemboles sont ajoutés 2 semaines (modalité 1,5 mois) ou 4 semaines (modalité 1 mois) après le début de l'expérience.

II.2.2. Protocole de l'expérience 2 : interactions biotiques dans deux sols délaissés

A partir de la première expérience, qui a permis de cibler la taille des pots et la durée de l'interaction entre les collemboles et la plante mycorhizée, une deuxième expérience a été menée en testant deux sols et en comparant quatre traitements, c'est à dire **avec et sans inoculation du champignon mycorhizien et du collembole**.

II.2.2.1. Design expérimental et dispositifs

- **Design experimental**

Le ray-grass est cultivé sur deux sols, précédemment présentés (Homécourt – zone soumise à l'atténuation naturelle et le sol de Moyeuve-Petite). Ces sols ont été choisis car ce sont des sols de friches industrielles, d'origines différentes (ancienne cokerie et bassin à boue) avec des différences au niveau physico-chimique. Le ray-grass est cultivé sur ces deux sols en présence/absence de collemboles (*Sinella caeca*) et en présence/absence de champignons mycorhiziens (*Funneliformis mosseae* BEG69). Dans les témoins sans organismes, les inoculums stérilisés et des collemboles morts (pour ajouter la même biomasse animale) sont ajoutés. Cette expérience est réalisée avec 5 répliques par condition (Figure 2.20).

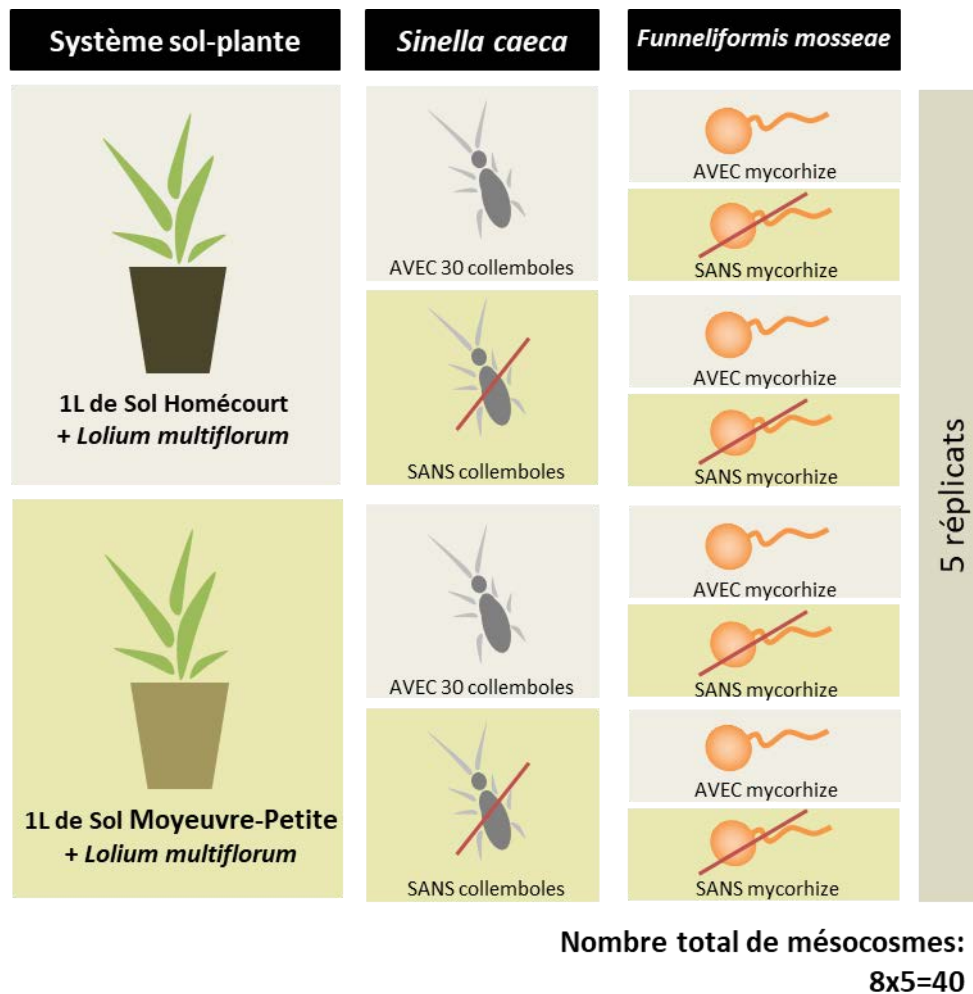


Figure 2.20 : Plan de l'expérience n°2 sur l'interaction Plante-Mycorhize-Collemboles dans deux sols délaissés.

Les plantes et les inoculums de champignon mycorhizien et de collemboles sont préparés comme dans la première expérience. Les spores de champignons sont directement placées avec les graines de ray-grass germées au début de l'expérience, comme pour l'expérience 1. Les collemboles sont ajoutés 2 semaines après le début de l'expérience (pour laisser le temps à la mycorhization de s'installer avant interaction) afin d'avoir une durée d'interaction de 1 mois et demi. Ce temps d'interaction est issu de la première expérience. Ces collemboles subissent préalablement une période d'acclimatation d'une semaine, dans les mêmes conditions que l'expérience 1.

• Dispositifs expérimentaux

Les sols sont **stérilisés par ionisation aux rayons gamma** à une dose de 25 kGy (société Ionisos, Dagneux) avant installation dans des pots de 1L.

Les dispositifs sont des pots en plastique de 1L, dans lesquels sont placés des sacs plastiques transparents comme dans l'expérience 1. Ces sacs ont été remplis avec 1 kg de sol séché à l'air et tamisé à 2 mm.

Les dispositifs sont placés dans des chambres de cultures (Figure 2.21) selon les conditions détaillées dans la partie II.2.3.

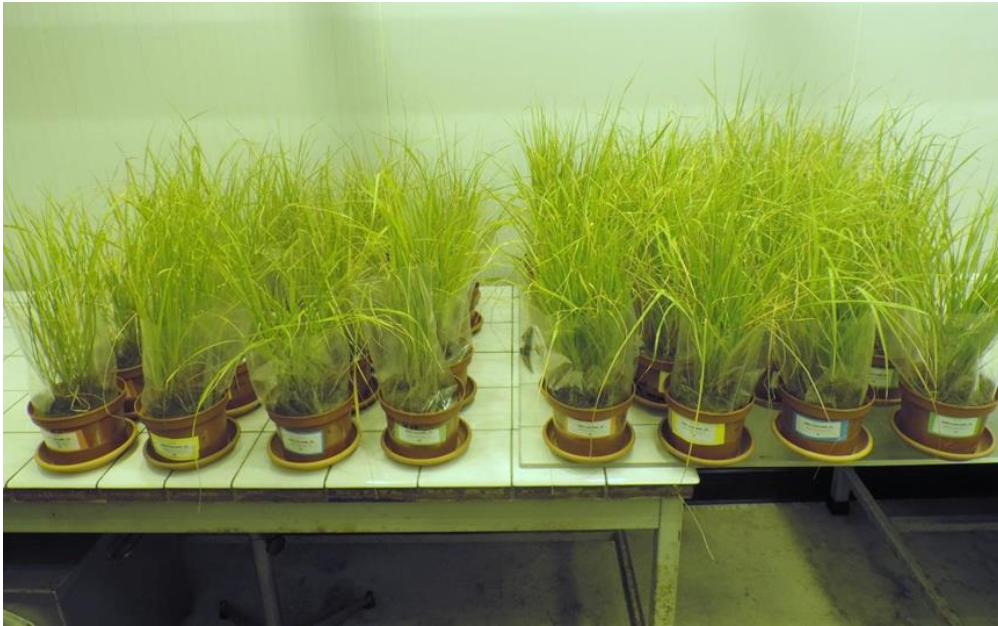


Figure 2.21 : Photographie des dispositifs de 1L pour l'expérience n°2 dans la chambre de culture.

II.2.2.2. Organismes introduits

- **Plante, champignon mycorhizien et collemboles**

Les organismes sont introduits de la même façon que dans l'expérience 1. Dans les témoins « sans mycorhize », 200 spores du champignon mycorhizien autoclavées (121°C pendant 15 min) la veille de l'inoculation et conservées à 4°C sont placés dans les dispositifs. Ces spores non-viables sont introduites dans les mésocosmes de la même manière que les spores viables afin d'ajouter les mêmes biomasses fongiques dans les dispositifs. Pour les témoins sans collemboule, des animaux morts (placés à -80°C pendant 3 h) sont introduits dans les dispositifs afin d'ajouter les mêmes biomasses animales dans les dispositifs. Les sols étant stérilisés par ionisation, une flore microbienne autochtone a été réintroduite. Le protocole d'inoculation est détaillé ci-après.

- **Ajout de l'inoculum microbien**

Chaque mésocosme a été ré-inoculé avec la **microflore bactérienne autochtone** du sol étudié, à partir d'un inoculum préparé le jour même de la mise en place de l'expérience. Pour cela, du sol non stérile est mélangé avec une solution de NaCl à 0,8% à hauteur de 1:2 (w/v). Le tout est agité par retournement (15 tour.min⁻¹) pendant 1 h et la suspension est filtrée sur filtre plissé. Le filtrat récupéré est ensuite filtré à 5 µm grâce à une pompe à vide afin d'éliminer les spores de champignons mycorhiziens indigènes du sol et les endophytes fins. Le nouveau filtrat est ensuite centrifugé à 3000 rpm pendant 5 min et le surnageant est éliminé pour ne conserver que 1/10^{ème} du volume initial. La concentration bactérienne de l'inoculum concentré est estimée grâce à un comptage en cellule de Thoma. Chaque pot a été inoculé avec 10 mL de l'inoculum concentré, ce qui a permis d'avoir une concentration estimée de 1.10⁸ bactéries.g⁻¹ de sol dans les mésocosmes contenant du sol d'Homécourt et 8.10⁷ bactéries.g⁻¹ de sol dans les mésocosmes contenant du sol de Moyeuve-Petite.

II.2.3. Conditions de cultures des deux expériences

Les conditions de cultures sont communes aux deux expériences. Ainsi, les dispositifs sont arrosés 3 fois par semaine, en ajoutant une certaine masse d'eau distillée par pesée, pour être maintenus à 80% de la capacité de rétention en eau de chaque sol. Lors de l'expérience, les mésocosmes sont disposés au hasard à chaque arrosage. Les conditions de cultures dans la chambre de culture sont les suivantes : 22°C/18°C jour/nuit, 80% d'humidité, environ 250 µmol photons m⁻².s⁻¹ avec 16 heures d'éclairage.

II.2.4. Paramètres mesurés dans les deux expériences

A l'arrêt des expériences, les différentes parties du dispositif sont séparées (Figure 2.22) selon le protocole suivant :

- Le bloc de sol est sorti de son pot et le sac plastique est découpé. La plante est secouée dans un bac (avec de hautes parois pour récupérer les collemboles) afin de séparer le sol non rhizosphérique. Le sol adhérent aux racines (sol rhizosphérique) est ensuite conservé à -20 °C pour l'analyse de la **densité microbienne** (voir partie II.3.2.1). Environ 50 g de ce sol rhizosphérique est directement séché à l'air pour les analyses **physico-chimiques** (voir partie II.3.1.1). Après cela, tout le sol restant ainsi que les racines sont placées dans le bac.

- Les parties aériennes sont récoltées et conditionnées dans des sacs en papier kraft. **La biomasse des parties aériennes** est mesurée par pesée des parties récoltées après avoir été

séchées à l'étuve à 70°C pendant 3 jours (Arienzo *et al.*, 2004; Audet et Charest, 2010; Seres *et al.*, 2006). Les parties aériennes sèches ont également servi à mesurer leurs **teneurs en éléments majeurs et traces** (voir partie II.3.1.2).

- Le sol (et les racines) placé dans le bac est ensuite immergé dans l'eau afin de récolter les **collemboles** qui se retrouvent ainsi en surface. Les collemboles récoltés sont conservés à 4°C pour un comptage dans les jours suivants.
- Les racines sont directement lavées sous l'eau. Une partie de ces racines sont colorées au bleu Trypan pour estimer leur niveau de **colonisation mycorhizienne** (voir partie II.3.2.2). Le reste est séché à l'étuve à 70°C pendant 3 jours, conditionné dans du papier kraft, pour la mesure de la **biomasse racinaire** (Arienzo *et al.*, 2004; Audet et Charest, 2010; Seres *et al.*, 2006). Les parties racinaires sèches ont également fait l'objet d'analyses de leurs teneurs en éléments majeurs et traces (voir partie II.3.1.2).

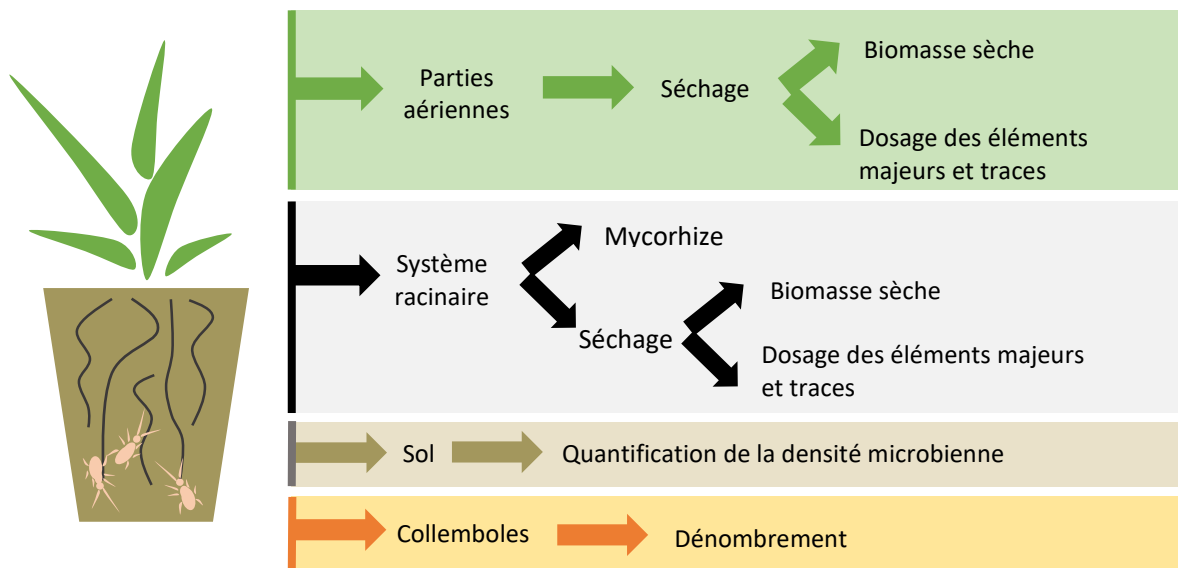


Figure 2.22 : Schéma des différents paramètres mesurés dans les deux expériences en mésocosmes.

II.3. Méthodes analytiques

II.3.1. Analyses physico-chimiques

II.3.1.1. Analyses physico-chimiques des sols

Des analyses physico-chimiques ont été réalisées pour les sols échantillonnés sur le terrain, sur les 6 sites avec 5 points d'échantillonnage par site, excepté le sol de Jeandelaincourt avec 4 points d'échantillonnage. Ces analyses ont été réalisées selon des normes françaises et internationales, incluant le stockage des échantillons (ISO 18512). Les paramètres agronomiques suivants ont été analysés :

- La **granulométrie** selon la norme NF X 31-107 (2003) avec du sol sec tamisé à 2 mm (analysée par le Laboratoire d'analyses des sols d'Arras, France) ;
- Le **pH** selon la norme ISO 10390 (1994), avec 20 g de sol frais dans de l'eau distillée selon un ratio de 1:5 (v/w) (analyse réalisée au LIEC³¹) ;
- La **capacité d'échange cationique (CEC)**, selon la norme NF X 31-130, (1999), par extraction à la cobalthexamine (analyse réalisée au LSE³²) ;
- La **capacité de rétention en eau (CRE ou *Water Holding Capacity* (WHC))** selon la norme ISO 11267 (2014)– Annexe B (analysée au LIEC) ;
- Le **carbone total et organique** (après décarbonatation) ainsi que l'azote total ont été analysés selon la norme ISO 10694 (1995) par combustion au LIEC ;
- Le **phosphore disponible** a été mesuré selon la norme NF ISO 11263 (1995) en utilisant la méthode du phosphore Olsen (analyse réalisée au LSE) ;
- Les **cations échangeables** Ca, K, Mg et Na ont été extraits à la cobalthexamine (lors de la mesure de la capacité d'échange cationique - NF X 31-130 (1999)) et analysés par ICP-OES (*Inductively Coupled Plasma avec Optical Emission Spectroscopy*) selon la norme ISO 22036, (2008) au LSE.

Les contaminants mesurés sont les ETM et les HAP. Ces composés ont été analysés selon les méthodes suivantes :

- Les **ETM pseudo-totaux** sont minéralisés à l'eau régale (mélange d'HCl et d'HNO₃) selon la norme ISO NF 11446 et analysés par ICP-OES (ISO 22036 (2008)) au LSE.
- Les **ETM disponibles** sont extraits par une solution de CaCl₂ et DTPA³³ selon la norme NF EN 13651 et analysés par ICP-OES (ISO 22036 (2008)) au LSE.

³¹ LIEC : Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux (UL-CNRS)

³² LSE: Laboratoire Sols et Environnement (UL-INRA)

³³ DTPA : Diethylenetriaminepentaacetic acid

- Les **HAP pseudo-totaux** sont extraits, à partir de 2 g de sol lyophilisé, au dichlorométhane par un extracteur automatique à haute pression et haute température (DIONEX® 200 ASE (*Accelerated solvent extractor*)). Le dichlorométhane est évaporé sous flux d'azote et remplacé par de l'acétonitrile. Les 16 HAP classés prioritaires par l'US-EPA sont séparés par HPLC (*High-Pressure Liquid Chromatography* - Dionex Ultimate 3000). La colonne (Eclipse PAH, Agilent) a une dimension de 2,1×100 mm et une porosité de 1,8 µl. La séparation des composés s'est réalisée sous un gradient acétonitrile/eau (de 40 à 100% d'acétonitrile) à 25°C avec un débit de 0,420 mL.min⁻¹. Les concentrations sont mesurées par un détecteur UV à 254 nm (Diode array detector). Pour l'analyse, 1 ml d'extrait a été filtré à 0,45 µm (PTFE, VWRTM). Ces analyses ont été réalisées au LIEC.

II.3.1.2. Analyses physico-chimiques des parties aériennes végétales

Des analyses physico-chimiques ont également été réalisées sur du matériel biologique. Ainsi, les concentrations en éléments dans les parties aériennes des plantes à la fin des cultures en mésocosmes ont été mesurées. Les **éléments majeurs** (Ca, K, Mg, P, S et Fe) **et traces** (Zn, Pb, Cd et Ni) minéralisés proviennent de la digestion de 0,5 g de matière végétale, préalablement séchée (70°C pendant 3 jours) et finement broyée, par un mélange d'HNO₃ (2,5 mL à 14,7 M) et d'H₂O₂ (5 mL à 12,7 M). Les échantillons sont placés en contact avec de le mélange pendant 16 h à température ambiante. Le mélange est ensuite porté à 95°C durant 2 h dans un bloc chauffant avant d'être filtré. Le filtrat, dont le volume est ajusté, est analysé par ICP-OES (ISO 22036, 2008) au LSE afin de déterminer les concentrations en éléments majeurs et traces contenues dans les parties aériennes.

II.3.2. Analyses biologiques

II.3.2.1. Densité, diversité structurelle et structure des communautés bactériennes et fongiques

La densité et la diversité microbienne des 6 sols étudiés sur le terrain sont analysées. La densité microbienne a été mesurée dans les sols issus des mésocosmes en fin d'expérience.

Les analyses sont réalisées, après extraction de l'ADN génomique, par **PCR** (*Polymerase Chain Reaction*) **en temps réel**, nommé également **qPCR** (pour *quantitative* PCR) ou **RT-PCR** (pour *Real-Time Polymerase Chain Reaction*) selon la méthode de Cébron *et al.* (2008) pour les bactéries et celle de Thion *et al.* (2012) pour les champignons. La densité bactérienne et fongique est estimée *via* la mesure du nombre de copies de gène codant l'ARN 16S et 18S, respectivement, en utilisant les amorces 968F/1401R (Felske *et al.*, 1998) et Fung5F/FF390R (Lueders *et al.*, 2004). L'ADN des microorganismes présents dans 0,5 g de sol, conservé à -20°C et tamisé à 2 mm, grâce à un kit d'extraction commercial (FastDNA SPIN - MP Biomedicals). Cet extrait est repris dans 100 µl de DES (Dnase-Free water). La quantité et la qualité (ratio Abs._{260nm}/Abs._{280nm}) de l'ADN total sont estimées par une méthode spectrophotométrique (UV1800, Shimadzu équipé d'une unité TrayCell (Hellma)). La réaction d'amplification est réalisée dans un volume final de 20 µl contenant le iQ SYBR green SuperMix (Bio-Rad). La quantification est réalisée grâce à un thermocycleur iCycler Optical System (Bio-Rad). Les détails des séquences d'amorces et des conditions de PCR sont placés en annexe 3.

Encadré 2.2 : Pourquoi utiliser les gènes codant pour l'ARN 16S et 18S ?

Le gène ARNr 16S code la sous-unité 16S de l'ARN ribosomal et est essentiellement utilisé en raison de sa structure, très conservée dans toutes les bactéries. En effet, il est constitué d'une succession de domaines conservés, permettant la complémentarité des amorces universelles. De ce fait, ce gène peut être mesuré chez toutes les bactéries. Entre ces régions conservées se trouvent des portions de séquences propres à un groupe de bactéries (espèce, genre, famille), nommées séquences signatures, utilisées pour le séquençage de ce gène permettant l'identification taxonomique. Pour le 18S, le principe et les intérêts de l'utilisation de ce gène sont identiques à celui du 16S, sauf qu'il est exclusivement trouvé chez les eucaryotes, dont les champignons.

• Structure des communautés bactériennes et fongiques des 6 sols par DGGE.

La structure des communautés bactérienne et fongique des 6 sols étudiés sur le terrain a été en premier lieu estimée par **DGGE** (*Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*). La réaction de PCR a eu lieu dans 50 µL de volume réactionnel contenant 1X solution tampon de PCR (Invitrogen) additionné de 1,5 mM de MgCl₂, 200 µM de chaque dNTP (Fermentas), 0,2 µM de chaque primer (MWG-Biotech), 1,25 U de Taq ADN polymérase recombinante (Invitrogen), et 1 µL d'ADN extrait

des échantillons. Pour les bactéries, un fragment du gène codant l'ARN 16S est amplifié grâce aux amorces F984GC/R1378. L'amorce F984-GC présente un *clamp GC* afin d'éviter la dénaturation complète des fragments d'ADN étudiés lors de leur migration dans le gel d'électrophorèse. L'ADN simple brin présente des propriétés électrophorétiques différentes de celles de l'ADN double brin et pourrait sortir du gel dans les conditions utilisées lors de la DGGE (Heuer *et al.*, 1997). Le gel de DGGE pour l'étude des bactéries contient un gradient de 45 à 60% de dénaturant (100% de dénaturant étant définis comme 40% (v/v) de formamide et 7 M d'urée). Pour les champignons, un fragment du gène codant pour l'ARN 18S est amplifié grâce aux amorces FR1-GC/FF390 (Vainio et Hantula, 2000). Les détails des séquences d'amorces, du *clamp GC* et des conditions de PCR sont placés en annexe 3. Le gel de DGGE pour l'étude des champignons contient un gradient de 40 à 55% de dénaturant. Les analyses d'image des profils et de l'intensité des bandes ont été réalisées par le logiciel Quantity One® (version 4.6.9; Bio-Rad Laboratories). Pour chaque échantillon, la diversité structurelle est appréciée par la richesse, qui est estimée par le nombre de bandes.

- **Structure des communautés fongiques des 6 sols et des racines par séquençage haut débit.**

Un séquençage des communautés fongiques des **sols** issus des 6 sites étudiés sur le terrain ainsi que des communautés fongiques provenant de fragments **racinaires** issus des échantillonnages des 6 sols a été réalisé grâce à la technologie Illumina. L'ADN des échantillons de sols pour le séquençage est le même que celui utilisé pour la quantification de la densité microbienne par PCR en temps réelle (voir précédemment). Quant à l'ADN des échantillons de racines, il a été extrait par un kit d'extraction commercial, DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen®) en suivant les recommandations des fournisseurs.

La structure des communautés fongiques est réalisée à partir d'extrait d'ADN de chaque échantillon, de sol ou de racines, en séquençant le gène codant l'ARN 18S (environ 350 pb³⁴) en utilisant la **stratégie d'indexation double** ou *dual indexing strategy* (Kozich *et al.*, 2013). Ainsi, les amorces utilisées contiennent trois séquences particulières (de 5' à 3') : (i) une séquence adaptateur (*MiSeq Adapter*) P5 de 29 pb (pour l'amorce directe F) ou P7 de 24 pb (pour l'amorce inverse R) permettant la fixation des brins d'ADN à la cellule de séquençage, puis (ii) une séquence étiquette différente à chaque échantillon (*Index*) de 8 pb (principe de l'indexation double car les *index* des amorces F et R sont différents) permettant d'identifier l'échantillon auquel appartient la séquence, suivi de (iii) la séquence d'hybridation au gène 18S (*Linker*), c'est-à-dire FR1 (linker

³⁴ pb: paire de bases

F de 17 pb) et FF390 (linker R de 18 pb) (Prevost-Boure *et al.*, 2011) (Figure 2.23). Les détails des séquences des *index* utilisées sont placés en annexe 4.

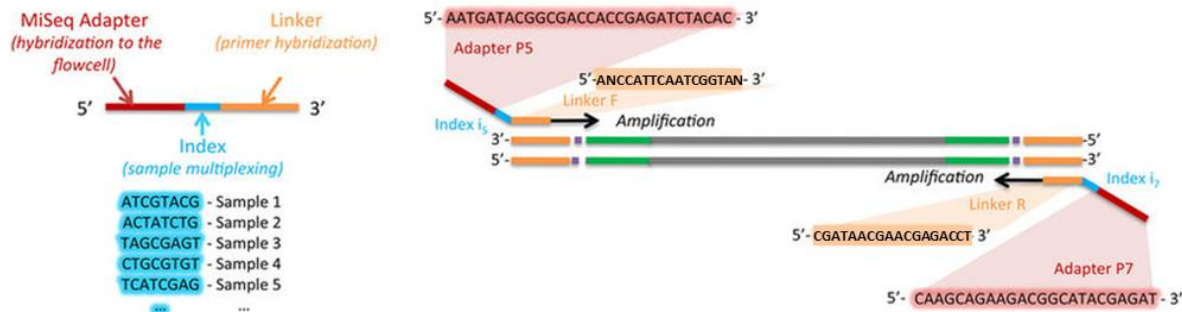


Figure 2.23 : Principe de la stratégie d'indexation double. [A gauche] : composition de la séquence adaptateur-index-amorces d'hybridation. [A droite] : Fixation de la séquence au fragment à amplifier (Cruaud *et al.*, 2017).

La **réaction de PCR** (pour le séquençage) est réalisée à partir de 2 µl d'ADN génomique dilué dans un volume final de 50 µl, contenant 10 µl d'un tampon *Phusion* haute-fidélité 5×, 1,5 µl de 50 mM de MgCl₂, 0,25 µl de DMSO (diméthylsulfoxyde), 0,1 µl de bactériophage T4 gp32 (MPBioMedicals, France), 0,1 µl de polymérase haute-fidélité *Phusion* (Thermo Scientific) et 1 µl de chaque primer à 10 mM. Les PCR sont réalisées avec 34 cycles selon les étapes suivantes : 22 cycles à 63°C avec une réduction de 0,5°C à chaque cycle suivi de 12 cycles à 52°C. Les produits d'amplifications sont ensuite vérifiés par une électrophorèse à 1% d'agarose et purifiés grâce à un kit (UltraClean-htp 96 well PCR Clean-Up, MoBio). Après quantification de l'ADN par le kit Quant-iT Picogreen ds-DNA (Invitrogen), la librairie d'amplicons a été préparée afin d'avoir un seul pool équimolaire (10 nM), purifié par un kit (QIAquick PCR, QIAGEN). La librairie d'amplicons est envoyée à séquencer à la plateforme Genewiz (USA) en utilisant le kit Illumina MiSeq V2 pour 2×250 pb.

Les **données de séquençage** ont été analysées par A.Cébron en suivant la procédure MiSeq SOP disponible en mars 2017 et décrite par Kozich *et al.* (2013) avec le logiciel Mothur (version 1.38.0, Schloss *et al.*, 2009). Seules les séquences comprises entre 300 pb et 350 pb, sans bases ambiguës, ont été sélectionnées. L'alignement de séquences a été réalisé grâce à la base de données Silva. Les chimères ont été identifiées grâce à Uchime (Edgar *et al.*, 2011) afin d'être retirées des analyses. La taxonomie a été assignée grâce à la base de données Silva (cutoff³⁵=80). De plus, les singletons (séquences retrouvées en seulement un exemplaire dans tous les échantillons) sont

³⁵ cutoff: il s'agit du nombre minimal de pair de base dans les séquences fournies après séquençage qui doit être aligné avec une séquence retrouvée dans la base de données afin d'être conservée dans l'analyse. En dessous de cette valeur, la séquence est considérée comme non assignable.

retirés de l'analyse, ainsi que les séquences affiliées aux archées, mitochondries et chloroplastes. Les séquences sont regroupées en unité taxonomique opérationnelle ou *Operational Taxonomic Units* (OTUs) à 97% d'homologie (avec les séquences retrouvées dans la base de données). Pour finir, le jeu de données d'OTU est réduit au plus petit nombre de séquences retrouvées dans les échantillons (2894 séquences pour les échantillons de sols et 419 séquences pour les échantillons de racines). La diversité taxonomique théorique, estimée par l'indice Chao1, a été calculée par le logiciel Mothur, pour chaque point d'échantillonnage. De même, les courbes de raréfactions ont été générées par le logiciel. La diversité taxonomique a été estimée par la richesse en OTUs et par l'équitabilité de Pielou. L'équitabilité de Pielou est le rapport de l'indice de Shannon³⁶ sur la diversité théorique maximale, c'est à dire le log2 de la richesse en OTUs.

II.3.2.2. Estimation de la colonisation mycorhizienne

Pour estimer la colonisation des racines par le champignon mycorhizien à arbuscules, le système racinaire des échantillons issus de l'étude *in situ* sur les 6 sites et celui du ray-grass provenant des mésocosmes en fin d'expérience est collecté, lavé et coupé en segments de 1 cm. Trente fragments sont récoltés au hasard et colorés avec du bleu Trypan selon la méthode de Koske et Gemma (1989). La **colonisation des champignons mycorhiziens à arbuscules** est estimée par la méthode de Trouvelot (1986). L'abaque de cette méthode est mis en annexe 5.

II.3.2.3. Densité et diversité taxonomique des communautés de la mésofaune

Les micro-arthropodes sont extraits des 10 carottiers (5×5 cm, d×h) pour chaque site étudié en utilisant un extracteur à gradient de température (Macfadyen, 1961). Après extraction, la mésofaune est transférée dans de l'éthanol à 70% (v/v) pour la conservation des individus. Après décoloration au chloral-lactophénol, les collembolés sont dénombrés et identifiés par microscopie optique (Leica ; grossissement maximal ×400) au niveau de l'espèce en utilisant la clé d'identification d'Hopkin (2007), de Gisin (1960), de Zimdars et Dunger (1994) et de Potapow (2001). La diversité en collembolés des sols a été caractérisée par la richesse spécifique et l'équitabilité de Pielou.

³⁶ Indice de Shannon : $H = -\sum_{i=1}^S p_i \times \log(p_i)$ où i : une espèce du milieu d'étude, S : richesse spécifique, p_i : Proportion d'une espèce i par rapport au nombre total d'espèces (S) dans le milieu d'étude (ou richesse spécifique du milieu)

II.3.2.4. Densité et diversité taxonomique des communautés de la macrofaune

Les individus de la macrofaune du sol sont soit issus du bloc de sol (25 cm × 25 cm × 30 cm ; L×l×h), afin d'échantillonner la faune potentiellement peu mobile, puis collectés à la main (l'abondance est exprimée en nombre d'individus.m⁻²) ou soit issus d'un échantillonnage par la méthode moins destructive au piège Barber, qui est une quantification de l'activité de la faune mobile (l'abondance est exprimée en nombre d'individus par piège). A l'issue des deux méthodes d'échantillonnages, les arthropodes sont transférés dans de l'alcool à 70% (v/v) pour assurer leur conservation, jusqu'à dénombrement et identification. L'identification a été réalisée sous loupe binoculaire (grossissement ×10) au niveau de l'ordre et de la famille à l'aide d'ouvrages (pour l'étude globale – Chapitre 3), et jusqu'à l'espèce pour les coléoptères par nos collaborateurs spécialistes à l'INRA Versailles³⁷ (pour les études des communautés – Chapitre 4). Les fourmis ne sont pas prises en compte dans toutes les analyses (abondance, diversité et structure des communautés) car ce sont des animaux sociaux ayant une distribution agrégée dans l'espace, pouvant induire une très forte hétérogénéité spatiale des communautés (Nahmani et Rossi, 2003). La diversité de la macrofaune a été caractérisée par la richesse taxonomique et l'équitabilité de Pielou.

II.3.2.5. Biomasse et diversité structurale des végétaux

La diversité végétale est estimée par la richesse taxonomique des plantes présentes dans 1 m². Les niveaux d'identifications vont jusqu'au genre ou jusqu'à la famille à l'aide de différents ouvrages de botanique (notamment Bonnier et Georges de Layens, 1996; Polese, 2007). La biomasse végétale récoltée est séchée pendant 3 jours à 70°C et mesurée par pesée (Arienzo *et al.*, 2004; Audet et Charest, 2010; Seres *et al.*, 2006).

II.3.3. Analyses fonctionnelles des communautés

II.3.3.1. Fonctions de décomposition et de dégradation des communautés bactériennes et fongiques

- **Décomposition de la matière-organique**

Trois activités enzymatiques ont été sélectionnées dans cette thèse afin de représenter les principales voies de dégradation de la matière organique. L'activité globale de la minéralisation du carbone a été dosée par mesure de l'**hydrolyse de la Fluorescéine diacétate (FDA)**. Ce substrat peut être hydrolysé par un grand nombre d'enzymes comme les protéases, les estérases,

³⁷ Jodie Thenard et Mickael Hedde - Laboratoire ECOSYS - UMR 1402 (INRA)

les lipases, et sa dégradation permet d'avoir une mesure des activités enzymatiques globales dans les sols (Green *et al.*, 2006). Les activités de la **phosphatase alcaline** (Marx *et al.*, 2001) et de l'**uréase** (Sinsabaugh *et al.*, 2000), impliquées respectivement dans le cycle du phosphore et de l'azote, ont également été mesurées.

La plupart des micro-organismes du sol sont hétérotrophes et jouent un rôle important dans la dégradation des composés organiques. Ainsi, le potentiel de minéralisation par les micro-organismes a été évalué par la méthode **MicroResp™** (Campbell *et al.*, 2003) (Figure 2.24). Pour chaque échantillon, huit puits d'une plaque de 96 puits profonds (nommée plaque « sol ») ont été remplis avec 279 ± 62 mg de sol frais, tamisé à 2 mm, et incubé à 24°C pendant 86 h. Ensuite, une des 9 sources de carbones suivantes a été ajoutées: L-Arginine (Sigma), Glycine (Sigma), D(-) Fructose (Sigma), D(+) Galactose (Rectapur), Cellulose (Sigma), Lignin alkali (Aldrich), L-Cystéine (Amresco), D(+) Glucose monohydrate (Sigma), Phénylalanine (Sigma) et de l'eau distillée pour la respiration basale. Ces substrats ont été ajoutés à raison de 20 mg substrat.g⁻¹ de sol sec et le sol a été maintenu à environ 60% de la capacité de rétention en eau. La plaque de « détection », contenant 150 mL d'agar purifié (1%), du NaHCO₃ (2,5 mM), du KCl (150 mM) et de l'indicateur rouge de crésol (12,5 mg.mL⁻¹), est passée au spectrophotomètre (Safas Monaco Xenius XC) pour mesurer l'absorbance à 570 nm avant d'être associée à la plaque « sol » (T₀). Ensuite, la plaque de « détection » est placée sur la plaque « sol » (contenant un des 9 substrats ou de l'eau distillée), hermétiquement fermée par un joint. Le dispositif est incubé pendant $5,4 \pm 1,1$ h (dépendant de la vitesse de minéralisation du substrat) à 25°C. Ensuite, la plaque de « détection » est retirée du dispositif et l'absorbance de chaque puits est à nouveau mesurée au spectrophotomètre. La vitesse de développement de la couleur est calculée selon la différence d'absorbance entre le T₀ et après $5,4 \pm 1,1$ h, pour chaque puits. Une courbe étalon a été utilisée pour transformer le développement de la couleur en quantité de CO₂ produit. La moyenne des activités des 9 substrats est calculée afin de représenter la capacité moyenne de minéralisation ou **Average Mineralization Capacity (AMC)** de l'échantillon.

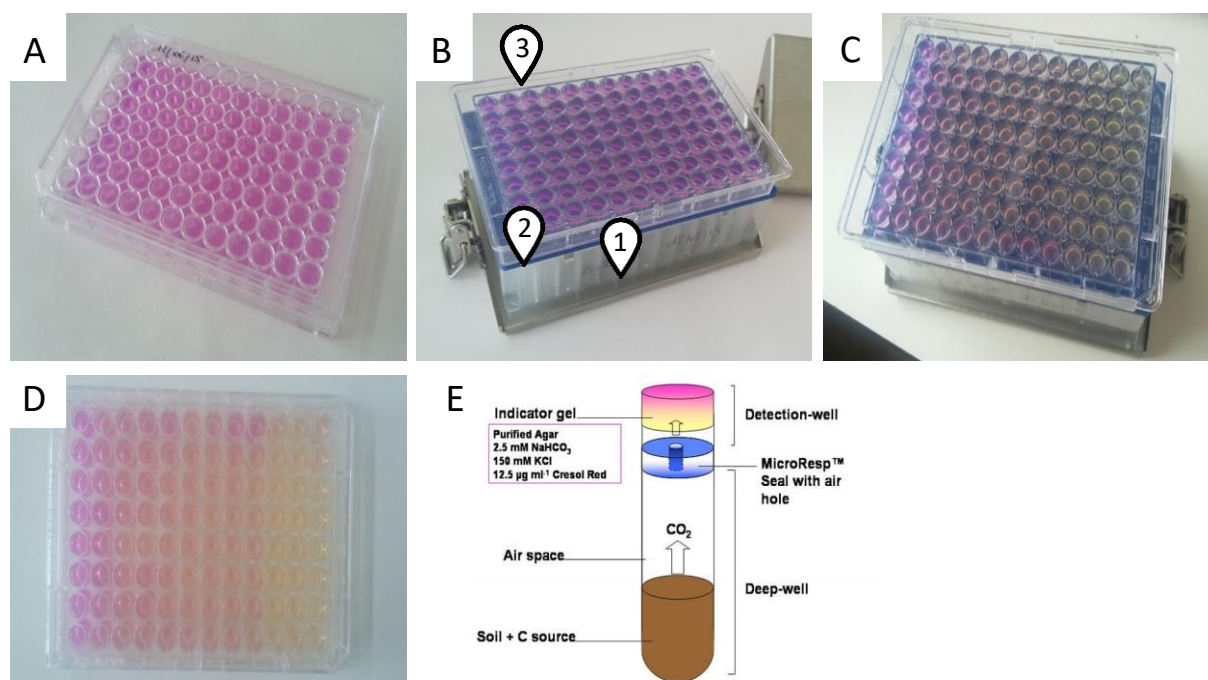


Figure 2.24 : Photographies du dispositif MicroResp™. [A]: Plaque de « détection » à T0 ; [B]: Dispositif complet avant incubation - 1: plaque de « détection », 2: joint hermétique, 3: plaque « sol » contenant du sol dans chaque puits avec un ajout de source de carbone ou de l'eau distillée ; [C]: Dispositif complet après incubation ; [D] : Plaque de « détection » après incubation (5,4±1,1 h), [E]: Principe du MicroResp™.

• Potentiel de dégradation des HAP

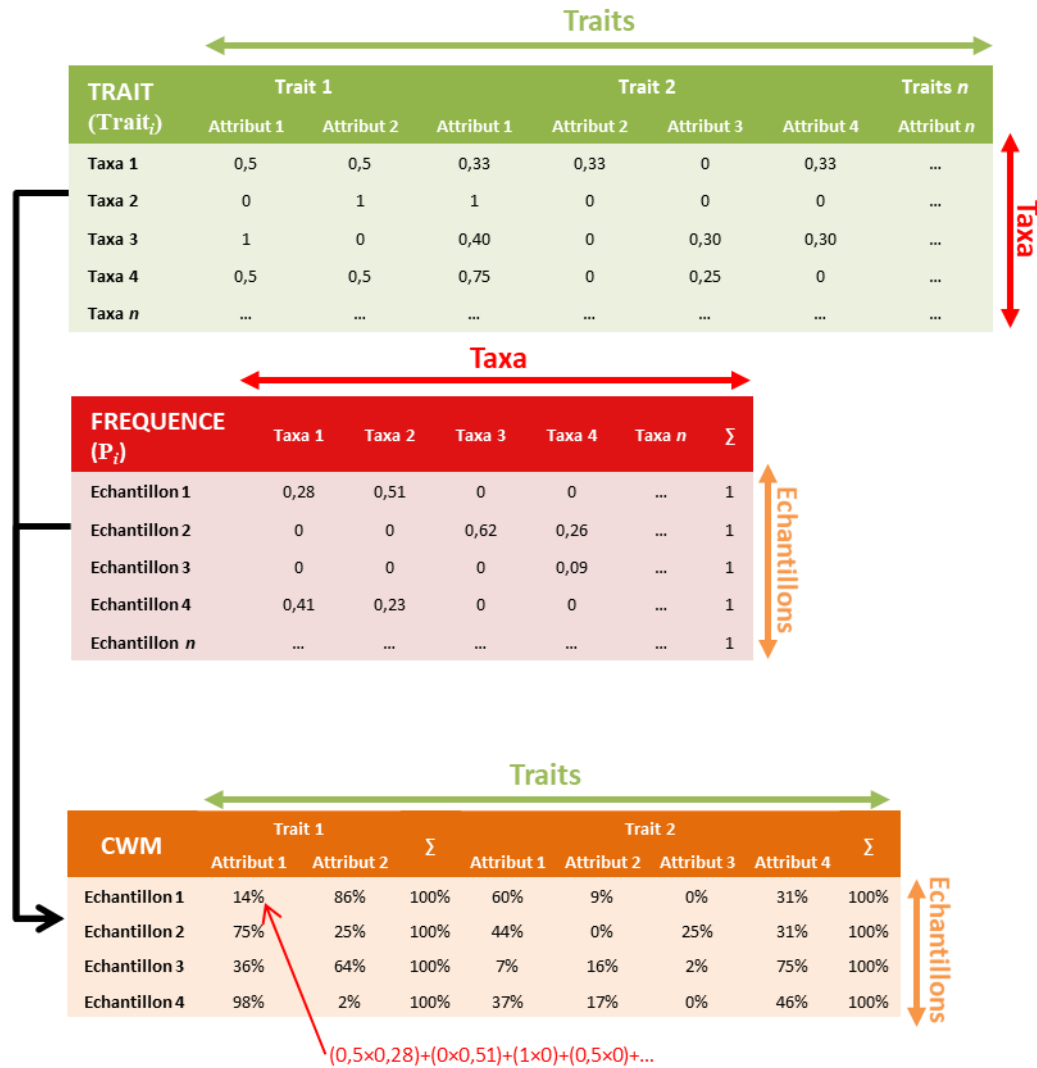
Le potentiel de dégradation des HAP par les bactéries dans les sols délaissés étudiés a été estimé par la **densité de gènes codant une enzyme** impliquée dans les premières étapes de la dégradation des HAP, la HAP dioxygénase. Cette mesure est réalisée à la fois pour les bactéries Gram positif (GP) et Gram négatif (GN) selon la technique de PCR développée par Cébron *et al.* (2008). Deux types d'amorces ont été utilisées : PAH-RHDα GP et GN, pour les bactéries Gram positif et négatif respectivement (Cébron *et al.*, 2008). Les réactions d'amplifications ont lieu dans un volume de 20 µL, contenant du iQ SYBR green SuperMix (Bio-Rad) et la quantification est réalisée en utilisant un détecteur iCycler Optical System (Bio-Rad). Les résultats sont exprimés en proportion de densité bactérienne dégradants les HAP c'est à dire le nombre de copies de gène codant la HAP dioxygénase rapporté au nombre de copies de gène codant l'ARN 16S.

II.3.3.2. Etude de la structure fonctionnelle des communautés faunistiques et fongiques par l'approche des traits et préférences écologiques

L'approche des traits et préférences écologiques a été utilisée pour les communautés faunistiques (collemboles et macrofaune) et fongiques pour les 6 sols délaissés étudiés sur le terrain.

La transformation de la structure taxonomique en structure fonctionnelle des communautés s'est basée sur l'analyse en codage flou. Cette méthode, développée par Chevene *et al.* (1994) est largement utilisée dans l'étude des traits. Il s'agit du codage d'informations retrouvées dans différentes sources (littérature scientifique, ouvrages *etc.*) en donnant des scores allant de 0 à 4, représentant l'affinité d'un taxon pour un attribut donné (0 pour la plus faible et 4 pour la plus forte affinité). Ensuite, les scores sont transformés en pourcentage de sorte que la somme des valeurs des attributs pour un trait donné et pour chaque taxa, fasse 100%. Nous obtenons ainsi un tableau (Traits × Taxa).

Afin d'estimer la structure fonctionnelle des communautés, le ***Community Weighted Mean (CWM)*** de chaque point d'échantillonnage, pour chaque attribut, est calculé. Il s'agit du pourcentage d'individus de la communauté appartenant à un attribut d'un trait donné. Par exemple, pour chaque point d'échantillonnage, le pourcentage de chaque type de régime alimentaire dans les communautés de macrofaune est calculé. Ainsi, pour le trait « Type de régime alimentaire », la somme des 4 attributs « zoophage », « phytophage », « géophage » et « détritivore » équivaut à 100%. Ce CWM est calculé à partir d'un tableau « Traits × Taxa » et d'un tableau « Taxa × Echantillons » pour obtenir un tableau « CWM × Echantillons » (Figure 2.25).


 Figure 2.25 : Illustration du calcul du *Community Weighted Mean* (CWM).

Le CWM est obtenu selon l'équation n°1, (Garnier *et al.*, 2004), où P_i est la fréquence de l'espèce i dans la communauté, n est le nombre de taxon, et $Attribut_i$ est l'affinité pour un attribut d'un trait donné de l'espèce i .

$$(Eq. 1) \quad CWM(\%) = \sum_{i=1}^n P_i \times Attribut_i$$

• Traits et préférences écologiques de la pédofaune

Afin d'estimer la structure fonctionnelle des communautés, l'approche par les traits de la pédofaune (mésafaune et macrofaune) est utilisée. Les CWM de chaque attribut sont alors calculés.

Les traits de vie retenus pour caractériser la structure fonctionnelle des communautés de collemboles et de la macrofaune sont présentés en tableau 2.2. **Dix traits/préférences écologiques** sont choisis pour représenter la structure fonctionnelle des communautés de collemboles et six traits/préférences écologiques sont choisis pour représenter la structure fonctionnelle des communautés de macrofaune.

Tableau 2.2 : Traits de vie étudiés et attributs correspondant pour les communautés de collembole et de la macrofaune. ¹ = Traits; ² = Préférences écologiques.

Groupe biotique	Traits de vie	Attributs
Collembole	Longueur du corps ¹	<1 1-2 2-3 >3 mm
	Forme du corps ¹	Sphérique Cylindrique
	Organe visuel ¹	absence d'ocelles 1-2 paires d'ocelles 3-4 paires d'ocelles 5-6 paires d'ocelles 7-8 paires d'ocelles
	Post antennal organ (PAO) ¹	Présence de PAO Absence de PAO
	Pigmentation ¹	Pigmentée Apigmentée
	Locomotion ¹	Présence de furca Absence de furca
	Reproduction ¹	Sexuée Asexuée
	Distribution verticale ²	Epi-édaphique Hémi-édaphique Eu-édaphique
	Micro-habitat ²	Organisme vivant dans des matières en décomposition Organisme vivant dans des matières minérales Organisme vivant au niveau des végétaux
	Habitat ²	Organisme vivant en forêt et prairie Organisme vivant en milieu agricole Organisme vivant en milieu humide Organisme vivant en milieu anthropisé

Macrofaune	Longueur du corps ¹	<2,5 mm 2,5-5 mm 5-10 mm 10-20 mm >20 mm
	Sclérotisation ¹	Présence de sclérotisation Absence de sclérotisation
	Type de pièces buccales ¹	Absente Piqueur-Suceur Gobeur Suceur Broyeur
	Type de régime alimentaire ¹	Zoophage Phytophage Géophage Détritivore
	Micro-habitat ²	Organisme vivant dans des matières en décomposition Organisme vivant dans des matières minérales Organisme vivant au niveau des végétaux
	Habitat ²	Organisme vivant en forêt et prairie Organisme vivant en milieu agricole Organisme vivant en milieu humide Organisme vivant en milieu anthropisé

- **Traits et préférences écologiques des communautés fongiques**

La transformation de la structure taxonomique en structure fonctionnelle des communautés s'est basée sur les travaux de Nguyen *et al.* (2016) dont les auteurs ont développé un outil informatique appelé « FUNGuild ». Pour chaque taxon (affilié au mieux jusqu'au genre), un « **mode trophique** »³⁸ est attribué, correspondant à 9 attributs : endophyte, symbiotique endomycorhizien, symbiotique ectomycorhizien, pathogène des lichens, pathogène des champignons, pathogène des plantes, saprophyte du fumier, saprophyte du bois et saprophyte du sol. Nous considérons ce « mode trophique » comme un trait.

³⁸ Ce terme employé par Nguyen *et al.*, (2016) dans leur logiciel FUNGuild.

II.3.4. Synthèse des paramètres mesurés

Les paramètres mesurés au cours de la thèse sont explicités dans le tableau ci-dessous (Tableau 2.3).

Tableau 2.3: Tableau général synthétisant les différents paramètres mesurés dans la thèse.

		Paramètre	Objets d'études	Chapitre(s) de la thèse
Physico-chimie des sols	Fertilité	pH	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitres 3, 4, 5 et 6
		CEC	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitres 3, 4, 5 et 6
		propriétés de rétention en eau	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitres 3, 4, 5 et 6
		granulométrie	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitres 3, 4 et 5
		éléments majeurs (pseudo-totaux et/ou échangeables)	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitres 3, 4, 5 et 6
		Phosphore Olsen	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitres 3, 4, 5 et 6
		Ctot, Corg et Ntot	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitres 3, 4, 5 et 6
	Polluants	ETM (pseudo-totaux et disponibles)	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitres 3, 4, 5 et 6
		HAP (pseudo-totaux)	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitres 3, 4 et 5
Micro-organismes	Bactérie	Abondance	Etude <i>in situ</i> des 6 sols Etude en laboratoire des 2 sols	Chapitres 3, 6 et 7
		Diversité	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitre 3
	Champignons (sols)	Abondance	Etude <i>in situ</i> des 6 sols Etude en laboratoire des 2 sols	Chapitres 3, 6 et 7
		Diversité	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitres 3 et 5
		Fonctions (<i>via</i> l'approche "trait")	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitre 5
	Champignons (racines)	Diversité	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitre 5
	Mycorhize	Colonisation racinaire	Etude <i>in situ</i> des 6 sols Etude en laboratoire des 2 sols	Chapitre 3 et 7
Fonctions microbiennes	Activités enzymatiques	FDA	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitres 3 et 6
		Uréase	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitre 3
		Phosphatase	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitre 3
		MicroResp	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitre 3
	Génomique	abondance des microorganismes dégradant les HAP	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitre 3
Faune	Mésofaune	Abondance	Etude <i>in situ</i> des 6 sols Etude en laboratoire des 2 sols	Chapitre 3 et 6
		Diversité	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitres 3, 4 et 6
		Fonctions	Etude <i>in situ</i> des 6 sols Etude en laboratoire des 2 sols	Chapitres 3, 4 et 7
	Macrofaune	Abondance	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitres 3 et 6
		Diversité	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitres 3, 4 et 6
		Fonctions	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitres 3, 4 et 7
Végétaux	Biomasse végétale	Abondance	Etude <i>in situ</i> des 6 sols Etude en laboratoire des 2 sols	Chapitres 3 et 7
	Herbacées	Diversité	Etude <i>in situ</i> des 6 sols	Chapitres 3 et 6
	Minéralomasse	éléments mineurs et majeurs des parties aériennes	Etude en laboratoire des 2 sols	Chapitre 7

II.3.5. Tests statistiques et analyses de données

Pour évaluer la significativité des différences entre les conditions étudiées (par exemple, la différence des paramètres mesurés (physico-chimiques, biologiques ou fonctionnels) entre les 6 sols dans l'étude de terrain ou entre les différentes conditions étudiées en laboratoire) la normalité du jeu de données pour chaque condition a été vérifiée avec le test de Shapiro Wilk ($P > 0,5$) et l'homogénéité des variances entre les différentes conditions a été vérifiée avec le test de Bartlett ($P > 0,5$). Ces deux tests permettent de valider les conditions pour la réalisation de tests paramétriques.

Lorsque les données suivaient des conditions permettant des tests paramétriques, des **Analyses de variances (ANOVA)** à un ou deux facteurs ont été réalisées, suivies par le test de comparaison multiple HSD (*Honest Significant Difference*) de Tukey. Lorsque le jeu de données comportait l'effet du temps, une ANOVA à deux facteurs à mesures répétées a été utilisée. Pour cela, un modèle linéaire a été réalisé pour chaque traitement avec le temps comme mesures répétées (Girden, 1992; Malmström *et al.*, 2009) grâce aux fonctions « lm » et « aov » du logiciel R.

Si les données ne suivaient pas les conditions nécessaires pour réaliser un test paramétrique, c'est le test de **Kruskal-Wallis** qui a été employé, suivi du test de comparaison multiple entre traitement selon la fonction « kruskalmc » de la librairie « pgirmess » (Siegel et Castellan, 1988). Les différences sont considérées comme significatives lorsque le risque α est inférieur à 5%. Des régressions linéaires ont été réalisées afin de tester la corrélation (Pearson), entre différents paramètres. Ce test est réalisé grâce à la librairie lmtest (Hothorn *et al.*, 2015).

Pour l'approche fonctionnelle des communautés d'organismes du sol, les valeurs de CWM de chaque attributs des différents traits (10 traits pour la macrofaune, 6 traits pour les collemboles et 1 trait pour les champignons), ainsi que les indices de diversité (*taxonomic richness* (TRic), *taxonomic evenness* (TEve), *functional richness* (FRic) et *functional evenness* (FEve)) ont été calculés grâce à la librairie « FD » (Laliberté *et al.*, 2014).

Les analyses de données se sont basées sur les analyses multivariées suivantes :

- Les **analyses de co-inerties** (Doledec et Chessel, 1994) ont été employées dans le Chapitre 3, pour l'étude des six sols *in situ*. Il s'agit d'une méthode de couplage entre deux tableaux (dans notre cas, il s'agit d'un tableau avec les variables biologiques et d'un autre tableau avec les variables physico-chimiques dont les marges communes sont les points d'échantillonnage). L'analyse cherche à révéler une co-structure entre les deux tableaux en cherchant une ordination commune qui soit de co-variations maximales avec les ordinations de chacun des deux tableaux séparés. Dans cette analyse, les axes de co-inertie maximisent la covariance entre les coordonnées

des projections des lignes de chacun des tableaux. Elles ont été effectuées grâce à la fonction « coinertia » de la librairie « ade4 » (Dray et Dufour, 2007). Un test de Monte-Carlo est réalisé à la suite de l'analyse de co-inertie afin de vérifier que la co-structure entre les deux jeux de données n'est pas le résultat d'un processus aléatoire. Ce test a été réalisé grâce à la fonction « randtest » de la librairie « ade4 » (Dray et Dufour, 2007).

- Une **Analyse canonique des correspondances (ACC)** ou ***Canonical Correspondence Analysis (CCA)*** (Braak et Oct, 1986) a été employée dans le Chapitre 6, pour étudier les relations entre les variables abiotiques et biotiques sur les parcelles de Jeandelaincourt à la dernière date d'échantillonnage (T3). Il s'agit d'une analyse confrontant deux jeux de données en mettant en corrélation un ensemble de descripteurs (variables physico-chimiques) avec un groupe de variables à expliquer (variables biologiques). La CCA a pour but de trouver la corrélation maximale entre les combinaisons linéaires (variables canoniques) des tableaux. Elle permet ainsi de reconnaître la part de variance des paramètres biologiques expliquée par les paramètres physico-chimiques. Cette analyse a été effectuée grâce à la fonction « cca » de la librairie « ade4 » (Dray et Dufour, 2007). Un test de Monte-Carlo est réalisé à la suite de la CCA afin de vérifier que la structure des points d'échantillonnage selon les variables biologiques n'est pas le résultat d'un processus aléatoire, mais liée aux paramètres physico-chimiques. Ce test a été réalisé grâce à la fonction « randtest » de la librairie « ade4 » (Dray et Dufour, 2007).

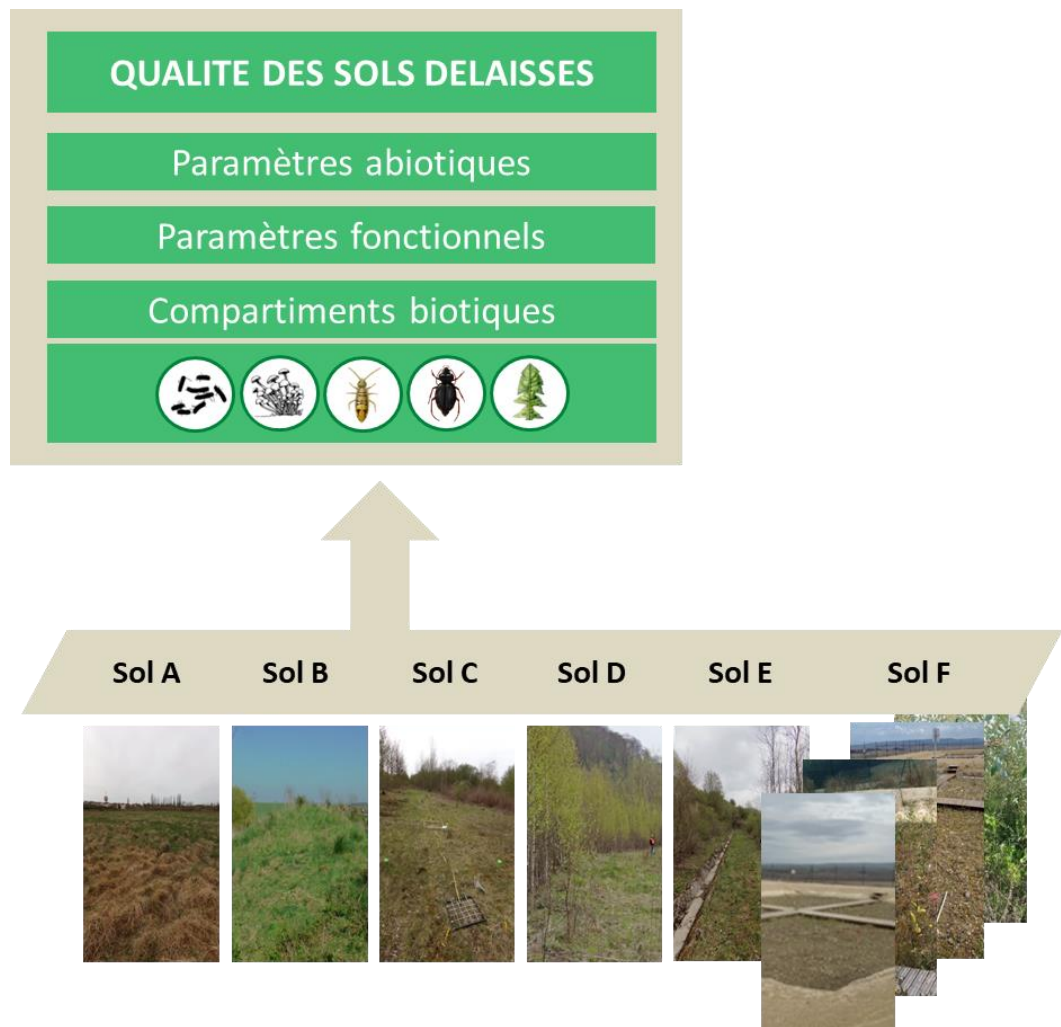
- Les **Courbes de réponse principale** ou ***Principal Response Curves (PRC)*** (Van Den Brink et Ter Braak, 1999) ont été employées dans le Chapitre 6, pour l'étude de la dynamique temporelle des paramètres biotiques et abiotiques sur les parcelles de Jeandelaincourt. La PCR a été définie comme une analyse multivariée temps-dépendante en réponse aux communautés biologiques au stress. Il s'agit d'une analyse canonique de redondance partielle où la projection du jeu de données des paramètres mesurés (avec répétitions) est contrainte par les variables dites environnementales, c'est à dire le temps et le type de sol. Elle permet une lecture facilitée des résultats au moyen d'une représentation graphique. Dans cette version courante de la PRC, le temps, le site et l'interaction « temps × sol » sont utilisés comme variables explicatives de l'évolution des différents paramètres. Ces analyses ont permis de comparer la dynamique temporelle de la structure multivariée des paramètres biotiques ainsi que celle des paramètres abiotiques, entre un site témoin (parcelle "TB" dans notre cas) et les autres sites, au cours du temps. Les données, préalablement log-centrées, sont analysées grâce à la fonction « prc » de la librairie « vegan » (Oksanen *et al.*, 2013).

- Les **analyses RLQ** (Dolédec *et al.*, 1996) ont été employés dans le Chapitre 4 et 5 afin de mettre en relation les paramètres physico-chimiques aux traits et préférences écologiques de la faune des six sols. Il s'agit d'une analyse canonique permettant le couplage de 3 tableaux : le tableau R, qui contient les paramètres abiotiques pour chaque point d'échantillonnage, le tableau L, qui contient les fréquences des taxons pour chaque point d'échantillonnage et le tableau Q, qui contient le pourcentage des attributs (des différents traits) pour chaque taxon. Cette analyse a été effectuée grâce à la fonction « *rlq* » de la librairie « *ade4* » (Dray et Dufour, 2007). Un test de Monte-Carlo est réalisé à la suite de l'analyse RLQ afin de vérifier que la structure des variables « traits » n'est pas le résultat d'un processus aléatoire, mais lié aux paramètres physico-chimiques, grâce à la fonction « *randtest* » de la librairie « *ade4* » (Dray et Dufour, 2007).

Les analyses de données ainsi que tous les tests univariés ont été réalisés par le logiciel R (version 3.1.3, Development Core Team, 2015). Les sorties graphiques ont été réalisées grâce à la librairie « *ggplot2* » (Wickham, 2009).

Chapitre 3 :

Mesure de la qualité des sols délaissés : approches abiotiques, biotiques et fonctionnelles



Suite à l'arrêt de nombreuses activités industrielles durant le siècle dernier, d'importantes surfaces de sols ont été dégradées. Caractérisés par une faible fertilité et une contamination modérée, certains de ces sols dégradés se retrouvent sans usage et sont ainsi délaissés. La demande croissante d'utilisation des sols pour des besoins de production autre qu'alimentaire (biogaz, fibres, biochar *etc.*) a conduit à considérer la requalification de ces sols délaissés comme une ressource. Toutefois, ces sols doivent être caractérisés pour définir au mieux les fonctions qu'ils peuvent remplir, à travers l'étude de leur qualité. Ainsi, la mesure des propriétés physico-chimiques, de la biodiversité et des activités biologiques peuvent être des indicateurs pertinents.

Dans l'état de l'art, nous avons souligné l'absence d'études caractérisant à la fois les propriétés physico-chimiques, biologiques et fonctionnelles des sols délaissés. De plus, nous avons montré que les études couplant plusieurs groupes biotiques étaient rares, alors qu'une telle approche permettrait de mieux caractériser ces sols. Ainsi, l'objectif de ce chapitre était d'appréhender la qualité de six sols délaissés en combinant la mesure des paramètres abiotiques, biotiques (de plusieurs groupes biotiques) et fonctionnels.

Pour répondre à cet objectif, nous avons étudié : (i) des paramètres physico-chimiques liés à la fertilité et à la contamination, (ii) les communautés bactériennes, fongiques, végétales et de la méso- et la macrofaune de six sols délaissés différents (deux sols provenant d'anciennes cokeries (sol B et E), un ancien bassin à boues sidérurgiques (sol D), deux sols construits à partir de différents substrats (Sol A) et de matériaux plus ou moins contaminés (Sol F) ainsi qu'une installation de stockage de déchets inertes (SolC)) et (iii) leurs fonctions de décomposition basées sur les groupes trophiques, des activités enzymatiques, la minéralisation et la dégradation de polluants organiques. Comme la macrofaune n'a pas pu être prélevée sur le sol construit F, les valeurs de densité, richesse et la proportion en macro-décomposeurs ont été modélisées pour ce sol dans ce chapitre.

Dans ce premier chapitre de résultats, nous avons montré que la biodiversité de ces sols était significative et que tous les groupes biotiques discriminent ces sols. Les analyses multivariées montrent que les paramètres biotiques co-varient davantage avec les paramètres de fertilité que ceux liés à la contamination. De même, les paramètres fonctionnels co-varient significativement avec les paramètres abiotiques. Parmi les paramètres fonctionnels, la proportion en macro-décomposeurs, les activités enzymatiques, la capacité moyenne de minéralisation et la proportion en bactéries dégradant les hydrocarbures aromatiques polycycliques permettent de discriminer les sols. Ainsi, le sol construit et amendé avec du compost (sol A) possède la meilleure qualité tandis que l'ancien bassin à boue sidérurgique (sol D) et le sol construit et contaminé par des ETM (sol F) semblent avoir les moins bonnes qualités. Bien que nous observions des différences entre les

sols, cette étude montre que les sols délaissés sont caractérisés par une biodiversité significative et peuvent être fonctionnels en terme de décomposition.

Assessment of derelict soil quality: abiotic, biotic and functional approaches

Quentin VINCENT ^{1,2}, Apolline AUCLERC ², Thierry BEGUIRISTAIN ¹
and Corinne LEYVAL ¹.

¹. Université de Lorraine, CNRS, Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux (LIEC), UMR 7360, Vandoeuvre-lès-Nancy, France.

². Université de Lorraine, INRA, Laboratoire Sols et Environnement (LSE), UMR 1120, Vandoeuvre-lès-Nancy, France.

Science of The Total Environment

Volumes 613–614, 1 February 2018, Pages 990-1002.

I. INTRODUCTION

Soils contribute to basic human needs like food, water, and air supply, and are a major carrier of biodiversity (Keesstra *et al.*, 2016). Soil sustainability and quality are key issues for solving major societal challenges such as food security, water resources, biodiversity (Mol and Keesstra, 2012). Soil quality has been defined by many authors and refers to the “capacity of a living soil to function, within natural or managed ecosystem boundaries, to sustain plant and animal productivity, to maintain or enhance water and air quality, and to support plant and animal health” (Doran, 2002; Karlen *et al.*, 2003). Soil quality is related to ecosystem services such as freshwater purification and regulation (Garrigues *et al.*, 2012), food and fiber production, and the maintenance of global ecosystem functions (Vidal Legaz *et al.*, 2016). To study soil quality, physico-chemical parameters are usually measured, including fertility parameters and contaminant concentrations (Joimel *et al.*, 2016). On the other hand, soil biological parameters are also considered as soil quality indicators (Cluzeau *et al.*, 2012). Estimating soil quality requires to take into account the quantitative and qualitative composition of biological communities as well as the rates, patterns, and relative importance of different ecosystem-level processes (Gessner and Chauvet, 2002).

The intensification and expansion of human activities has increased the pressure on land resources and led to soil degradation (Levin *et al.*, 2017). Land management, including land restoration, is among the six major global issues of the recently adopted United Nations Sustainable Development Goals (Keesstra *et al.*, 2016). The decline of manufacturing industries because of economic crises in the steel, shipbuilding or metal fabrication industries, as well as the

closing down of traditional mining activity, have left behind large numbers of derelict lands around the world (Wong and Bradshaw, 2002; Dangi *et al.*, 2012). For brownfield soils with high contamination levels and high toxicity risks, remediation of pollution is mandatory and controlled by regulatory policies. When contamination is moderate or low, soils remain unmanaged and underused (Cundy *et al.*, 2016). Sometimes called greenfields, wastelands, uncultivated, vacant or abandoned land, these derelict soils can be poor in nutrients (Dickinson, 2003) and/or contaminated (Morel *et al.*, 2005). However, with the estimated increase of the world's population and the increasing need for soil surfaces for plant production, some of these soils might be considered as a resource (Anderson and Minor, 2017), for example for non-food biomass production (Wilschut *et al.*, 2013; Lord, 2015). The potential of derelict soils to promote non-food biomass production has been studied in willow, miscanthus, reed canarygrass and switchgrass in England (Lord *et al.*, 2008) and in willow, poplar, miscanthus, and kenaf in Europe (Sæbo *et al.*, 2017). In India, marginal and degraded lands have been studied for biomass and biofuel production from *Prosopis juliflora* and *Jatropha curcas* (Edrisi and Abhilash, 2016).

Physico-chemical characteristics of derelict soils may affect their biodiversity (plant, animal and microbial communities) and imply adaptation of biodiversity (Khan *et al.*, 2000, for flora; Cébron *et al.*, 2008, for bacteria; Lucisine *et al.*, 2015, for fauna). However, derelict soils may also be of a heritage interest for biodiversity reserves, *e.g.* in wastelands (Bonthoux *et al.*, 2014). For instance, wastelands and urban soils in different countries have been reported to harbour a rich biodiversity, for example of flora in Atlantic Canada (Robinson and Lundholm, 2012), of Collembola in France (Joimel *et al.*, 2017), of Coleoptera (Eyre *et al.*, 2003), carabid beetles (Small *et al.*, 2006) and mycorrhizae (Gange and Brown, 2002) in the United Kingdom. Similarly, post-mining sites have been reported to harbour a high biodiversity of Collembola, earthworms and other macrofauna taxa (Dunger and Voigtländer, 2009; Frouz *et al.*, 2013). Soil biodiversity is also influenced by the complex interactions among the different biotic components (micro-organisms, meso and macro-fauna and plants) (Wardle *et al.*, 2004; Wardle, 2006), which play an important role in ecosystem functioning (Bardgett and Wardle, 2010; Morriën *et al.*, 2016).

Soil biodiversity and biological activity studies can be relevant to assess soil and whole ecosystem functioning because organisms influence key ecosystem processes such as primary production (Van Der Heijden *et al.*, 2008), decomposition and nutrient cycling (Hafeez *et al.*, 2012), soil aeration (Frouz *et al.*, 2007), water storage (Lavelle *et al.*, 2006), and also organic pollutant degradation (Peng *et al.*, 2008) or protection against metal toxicity (Leyval and Joner, 2001; Amir *et al.*, 2014). For instance, soil biota contributes to the degradation and removal of soil contaminants through natural attenuation after ecosystem disturbances in brownfields (Mulligan and Yong, 2004). Organic matter decomposition is one of the most critical ecosystem processes

for nutrient recycling between the aboveground and belowground subsystems (Norris *et al.*, 2013), it is directly performed by several components of living organisms (micro-organisms are decomposers, and several invertebrates such as Diplopoda, Collembola, earthworms are detritivores). When the belowground subsystem is not functional, plant growth can be totally inhibited (Wong and Bradshaw, 2003). Several studies have addressed plant growth on derelict soils (Gardiner *et al.*, 2013; Wilschut *et al.*, 2013; Lord, 2015; Anderson and Minor, 2017) as an indicator of their quality.

Most of the studies dealing with derelict soils considered either their fertility parameters, or their biodiversity, but did not take into account soil biodiversity and functions in interaction with abiotic factors. However, according to an emerging concept of multiple uses of soils (Varallyay, 2000; Wagg *et al.*, 2014), assessing soil quality should not be limited to studying productivity parameters, but should also include broader abiotic, biotic and functional parameters. The originality of our study was to investigate physico-chemical properties, biodiversity and biological activity to provide indications for a potential re-use of derelict soils. The objective of this study was therefore to investigate the quality of several derelict soils, based on an integrated approach addressing abiotic, biotic, and functional parameters and their interactions. To do so, six different derelict soils were chosen and sampled: two from coking plant sites, one from a settling pond, two constructed ones and an inert waste storage one. In order to characterize them, we studied a) abiotic parameters, including fertility parameters and contaminant concentrations; b) biotic parameters based on the density and taxonomical diversity of almost all the components of the soil biota: bacteria, fungi (mycorrhizal and non-mycorrhizal), the meso- and macro-fauna, and the plant communities; c) functional parameters: decomposition function through the decomposer trophic network, microbial carbon mineralization and organic pollutant degradation. Finally, to characterize the interactions between the different approaches, we used co-inertia analyses to discriminate the soils according to abiotic, biotic, and functional parameters.

II. MATERIALS AND METHODS

Six derelict soils were studied: two from former coking plant sites, two from experimental constructed fields, one from a settling pond site and one from an inert waste storage facility site. The characterization of these soils included abiotic, biotic, and functional parameters. The abiotic parameters were fertility parameters and pollutant concentrations. The biotic parameters were micro-organism, fauna and flora density (measured from density, biomass or frequency) and diversity (measured from taxon richness or ribotype number). Lastly, we analysed decomposition activity (meso- and macro-decomposers, enzyme and mineralization activities) as a functional parameter, and quantified bacterial polycyclic aromatic hydrocarbon degraders.

II.1. Study sites of derelict soils

Six derelict soils were studied (Table 3.1) in the Lorraine region (north-eastern France) (Figure 3.1) in April 2015. The climate in this region is continental, with mean annual temperatures ranging between 1.4 and 18.5°C, and annual rainfall around 750 mm. In April 2015, the average temperature was 10.4°C (with a minimum of 4.4 and maximum of 16.4°C) and rainfall was 51.2 mm with a daily minimum of 0 and maximum of 13.4 mm. The sites are located in a former industrial region, that included many coking plant sites and other steel factories.

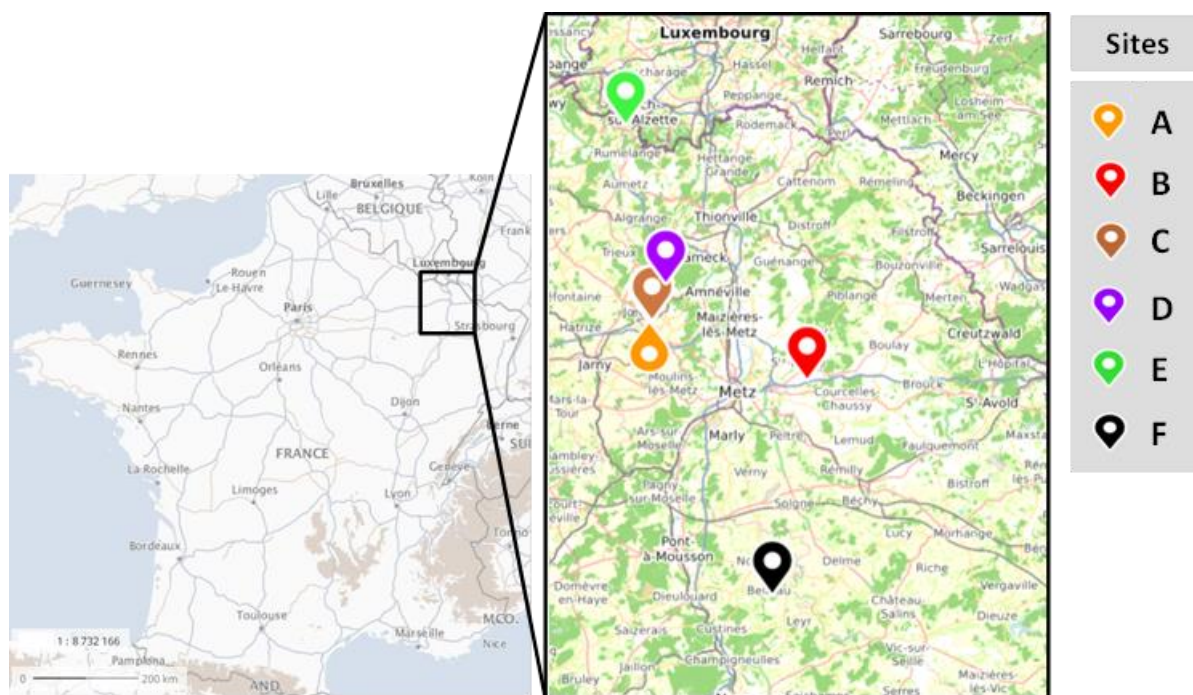


Figure 3.1: Localization of the sites where the six derelict soils were sampled. A:Biotechnosol (in Homécourt); B:Retonfey; C:Homécourt; D:Moyeuvre-Petite; E:Micheville; F:Jeandelaicourt.

Soil A was a Spolic Garbic Technosol (IUSS Working Group WRB, 2014) (Table 3.1). It was an experimental constructed soil (1.13 ha), set up on the site of a former coking plant in 2007 (Sere *et al.*, 2008). It was composed of an 0.3-m bottom layer made of paper mill waste, an 0.6-m layer of thermal-desorption-treated PAH-contaminated soil, and then an 0.15-m topsoil layer made of green-waste compost. It was planted with a mixture of grasses (30% *Lolium perenne* var. Tove, 40% *Festuca arundinacea*, var. Fuego, 30% *Dactylis glomerata*, var. Amba). At the time of sampling, soil moisture was $25 \pm 1\%$ (w/w). Soil B was a Skeletic Technosol. It was a non-hazardous waste landfill (0.7 ha), built in 2011; it was made of ground construction and demolition waste. This landfill formed a 7-m high mound, spontaneously colonized by herbaceous plants. The soil moisture was $11 \pm 3\%$ (w/w). Soils C and E were Spolic Technosols in former coking plant sites closed in 1980 and 1975 respectively. They differed in pollutant concentrations (Table 3.1), but were both colonized by herbaceous plants. The soil moisture levels were $17 \pm 2\%$ and $15 \pm 3\%$ (w/w) respectively. Soil D was a Spolic Technosol from a settling pond site filled with steel sludge until 1981 and covered with herbaceous plants. The soil moisture was $17 \pm 1\%$ (w/w). Lastly, soil F, a Spolic Technosol was an experimental 0.09-ha constructed soil and set up in 2013. It was composed of an 0-0.5-m topsoil layer made of biopile-treated PAH-contaminated soil mixed with heavy metal-contaminated sludge. It was planted with poplar trees (*Populus trichocarpa* $\times$ *P. maximowiczii*). Its moisture was $15 \pm 3\%$ (w/w).

II.2. Sampling method

Five samples were taken from each soil (except soil F where one sample was missing), along a 20-m transect with 5-m distance between each sample, in accordance with the Tropical Soil Biology and Fertility (TSBF) method (Anderson and Ingram 1993). Thus, 29 samples were collected in total between 8 and 29 April 2015. The TSBF method is designed for sampling soil macrofauna. We extrapolated the method so as to analyse the soil, plant, mesofauna, macrofauna and microflora from our sampling sites. For each sampling point (Figure 3.2), a 1×1 m frame (n°1) was first used to characterise plant herbaceous richness (Robinson and Lundholm, 2012). Inside that first frame, another 0.5×0.5 m quadrat (n°2) was established to sample plant shoot biomass (Bedunah *et al.*, 1995). In the middle of frame n°2, the mesofauna was sampled inside an 0.1×0.1 m frame (n°3) according to the ISO 23611-2 standard. Around the mesofauna sampling frame, four 0.1-m deep samples of 0.1×0.1 m (n°4) were pooled into one composite sample for physico-chemical and microbiological analyses. The macrofauna was sampled by hand sorting in a $0.25 \times 0.25 \times 0.30$ m soil block (n°5) directly adjacent to frame n°1. Sampling, extracting and preserving macro-invertebrates from soils, including the litter zone, was done according to the normalized TSBF method for temperate regions (ISO 23611-5). Samples were either dried

immediately for physical and chemical analyses (lyophilized for organic pollutant analysis) and plant biomass measurements, frozen within the day of sampling for microbiology analyses, stored at 4°C and analysed within a week for microbial activity and macrofauna measurements, and mesofauna was extracted within the day.

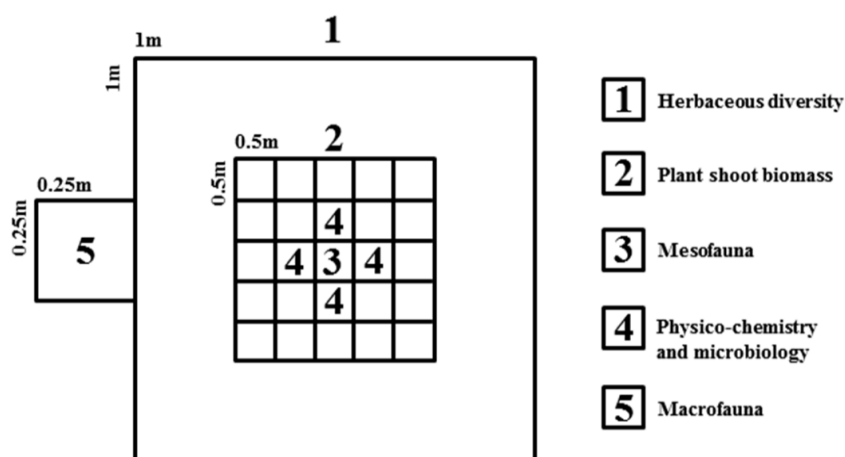


Figure 3.2 : Scheme of the different sampling quadrats: 1×1 m quadrats for herbaceous plant diversity ($n^{\circ}1$); 0.5×0.5 m quadrats for plant shoot biomass ($n^{\circ}2$); 0.1×0.1 m quadrats for the mesofauna ($n^{\circ}3$) and physicochemical and microbiological analyses ($n^{\circ}4$); 0.25×0.25 m for the macrofauna ($n^{\circ}5$). Five or four replicates were sampled per site.

II.3. Abiotic parameters

As regards abiotic parameters, 11 variables that quantify soil fertility (organic matter (OM), Water-Holding Capacity (WHC), clay content, exchangeable calcium (Ca), potassium (K), magnesium (Mg) and sodium (Na) cations, Olsen phosphorus (P), pH, Cation Exchange Capacity (CEC), carbon:nitrogen (C:N) ratio) and 4 pollution variables (Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) and available cadmium (Cd), zinc (Zn) and lead (Pb) concentrations) were measured. The time span since the last anthropogenic action was also taken into account.

II.3.1. Fertility parameters

The following usual agronomic parameters were analysed using normalized methods: granulometry (NF X 31-107), from 2-mm sieved soil (Soil Analysis Laboratory of Arras, France); pH, from 20 g of fresh soil in distilled water with a 1:5 ratio (v/w) (ISO 10390); CEC using cobaltihexamine extraction (NF X 31-130); WHC (ISO 11267 – Annex B); total carbon, total

nitrogen and organic carbon (assessed by combustion after decarbonation for organic carbon) (ISO 10694), and available phosphorus (using Olsen method) (NF ISO 11263). Pseudo-total metallic trace elements were measured by Inductively Coupled Plasma with Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES) after soil aqua regia digestion (ISO NF 11466). Exchangeable cations were extracted following the cobaltihexamine method (NF X 31-130) and analysed by ICP-OES (ISO 22036). All analyses were performed using certified reference material and control charts.

II.3.2. Pollutant concentrations

To quantify potential soil pollution, metallic trace elements and PAHs were analysed. CaCl_2 -, Diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA)-extractable (NF EN 13651) and pseudo-total metallic trace elements (ISO NF 11466) were measured by ICP-OES. PAHs were extracted from 2 g of lyophilized soil, using a high-pressure and high-temperature automated extractor DIONEX® 200 Accelerated Solvent Extractor (ASE) with dichloromethane. Dichloromethane was removed by evaporation under a nitrogen flow, and acetonitrile was added for analysis. The 16 US-EPA PAHs were measured using a High-Pressure Liquid Chromatography (HPLC, Dionex Ultimate 3000) system with a UV detector (254 nm). The low-molecular (2-3 cycles), intermediary (4-5 cycles) or high-molecular weight (6 cycles) PAHs were present in the same proportions in all soils, so we chose to present the sums of the 16 PAHs concentrations.

II.4. Biotic parameters

The density and richness of the biotic components (microbial, mesofauna, macrofauna and herbaceous communities) and mycorrhizal colonization frequency were measured.

II.4.1. Bacterial and fungal density and community structure

We measured the abundance and richness of soil micro-organisms in the composite soil samples n°4 (Figure 3.2). Nucleic acids were extracted from 0.5 g of fresh, 2-mm sieved soil with a FastDNA SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals), and suspended in 100 μL of DES (Dnase-free water). Total DNA concentrations and quality (A260/A280 purity ratio) were measured using a spectrophotometer (UV1800, Shimadzu) equipped with a TrayCell unit (Hellma). To quantify bacterial and fungal density in the six soils, a Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) was performed according to Cébron *et al.* (2008) and Thion *et al.* (2012) respectively. Bacteria and fungi were quantified by targeting 16S rRNA and 18S rRNA using the primer sets 968F/1401R (Felske *et al.*, 1998b) and Fung5F/FF390R (Lueders *et al.*, 2004), respectively. Amplification reactions were carried out in a 20- μL volume, using iQ SYBR green SuperMix (Bio-Rad), and quantification was

performed using an iCycler Optical System (Bio-Rad).

The bacterial and fungal community structures of the six soils were estimated by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE). General PCR reactions were carried out in 50- μ L reaction volumes containing 1 $\times$ PCR buffer (Invitrogen) supplemented with 1.5 mM $MgCl_2$, 200 μ M of each dNTP (Fermentas), 0.2 μ M of each primer (MWG-Biotech), 1.25 U of recombinant Taq DNA Polymerase (Invitrogen), and 1 μ L of template DNA. For bacteria, a fragment of the 16S RNA gene was amplified using primers F984-gc/R1378 (Heuer *et al.*, 1997). The bacterial DGGE gradient contained 45 to 60% of denaturant (100% denaturant was defined as 40% (v/v) formamide and 7 M urea). For fungi, a fragment of the 18S RNA gene was amplified using primers FR1-gc/FF390 (Vainio and Hantula, 2000). The fungal DGGE gradient contained 40-55% of denaturant. Image analyses of the DNA profiles and band intensities were obtained using Quantity One® (version 4.6.9; Bio-Rad Laboratories). The richness of each sample was estimated from the number of ribotypes.

II.4.2. Mycorrhizal colonization

We estimated root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi, which are symbiotic fungi associated to the roots of most plant species (Smith and Read 2008). The root systems collected in samples n°4 (Figure 3.2) were washed, and thirty 1-cm root segments were picked randomly. These root fragments were stained with Trypan blue (Koske and Gemma, 1989) and scored for the percentages of colonization by arbuscular mycorrhizal fungi according to the protocol described in Trouvelot *et al.* (1986).

II.4.3. Mesofauna density and richness

More than 90% of Collembola inhabit the top 10 cm of soil so 10-cm deep soil cores were considered as sufficient to sample most of the soil Collembola (Fountain and Hopkin, 2004). Collembola were sampled using two 5-cm diameter and 5-cm deep corers in sample n°3 (Figure 3.2). The micro-arthropods were extracted from the 10 corers per site using a high-temperature gradient extractor (Macfadyen, 1961). After extraction, they were transferred to a 70% (v/v) ethanol solution for conservation. Then they were bleached using chloral-lactophenol, counted to determine their density, and identified down to the species level using Hopkin's key (Hopkin, 2007) to determine species richness.

II.4.4. Macrofauna study

The soil macrofauna component was studied by excavating 0.25×0.25×0.30 m soil blocks in sample n°5. The macrofauna was hand-sorted in laboratory, and the organisms were kept in a 70% (v/v) ethanol solution. They were identified down to the family level. Ants were removed from the analysis because these social insects are highly aggregated in space (Nahmani and Rossi 2003).

II.4.5. Herbaceous plant biomass and richness

Herbaceous plant richness (number of genres or families) was quantified in the 1x1 m² area of sample n°1 (Figure 3.2). Shoots of herbaceous plants were sampled in an 0.5x0.5-m² area (sample n°2, Figure 3.2), dried for 3 days at 70°C and then weighted for biomass quantification.

II.5. Functional parameters

As regards functional parameters, decomposition was studied through Fluorescein DiAcetate (FDA) hydrolysis, alkaline phosphatase activity, urease activity, Average Mineralization Capacity (AMC), macro-decomposer and meso-decomposer relative abundance levels, and organic pollutant degradation by quantifying bacterial PAH-degradation genes.

II.5.1. Microbial functions

Enzymes are good proxies of the soil biological activity, and even considered as a component of the soil biodiversity (Caldwell, 2005). To study the potential decomposition process in the ecosystem, we quantified enzymatic activities involved in the phosphorus and nitrogen cycles, including alkaline phosphatase (Marx *et al.*, 2001) and urease (Sinsabaugh *et al.*, 2000), respectively, from sample n°4. To assess global activity (ubiquitous esterase, lipase and protease activities), FDA hydrolysis was measured (Green *et al.*, 2006).

Most soil microorganisms are heterotrophs and play an important part in organic compound mineralization. Potential microbial mineralization activity was assessed using a MicroResp™ system (Campbell *et al.*, 2003). For each sample, eight wells of a 96-deep-well plate were filled with fresh 2-mm sieved soil and 9 carbon sources were added: L-arginine (Sigma), glycine (Sigma), D(-) fructose (Sigma), D(+) galactose (Rectapur), cellulose (Sigma), alkali lignin (Aldrich), L-cysteine (Amresco), D(+) glucose monohydrate (Sigma), phenylalanine (Sigma), or distilled water for basal respiration. Detection microplates, were read in a spectrophotometer (Safas Monaco Xenius XC) at 570 nm absorbance wavelength (T₀) (Campbell *et al.*, 2003). Then, they

were placed on a MicroResp™ seal, on top of deep-well plates containing the soils and carbon sources or distilled water. After incubation for 5.4 ± 1.1 h (depending on the substrate) at 25°C, the plates were removed and read again in the spectrophotometer. The color development rates were calculated from the difference between absorbance values at 5.4 ± 1.1 h and at T_0 for each well, and the values were transformed to quantity of produced CO_2 . The means of the activities based on the 9 substrates were calculated and they represented the AMC of each sample.

The potential degradation capacity of PAHs in the soils was estimated by quantifying the Gram-Positive (GP) and Gram-Negative (GN) bacterial PAH-degrading gene from sample n°4. To that end, a real time PCR was performed (Cébron *et al.*, 2008). The two groups of PAH degraders were quantified by targeting PAH-ring hydroxylating dioxygenase genes using the primer sets PAH-RHD α GP and GN (Cébron *et al.*, 2008). Amplification reactions were carried out in a 20- μL volume, using iQ SYBR green SuperMix (Bio-Rad), and quantification was performed using an iCycler Optical System (Bio-Rad). Results were expressed as the proportion of bacterial PAH-degrading gene copies relatively to the 16S gene copies, *i.e.* the ratio between PAH degraders and bacterial density.

II.5.2. Functions of the fauna

Trophic groups are classified into 4 categories: phytophageous, zoophageous, geophageous, and decomposers (Pey *et al.*, 2014a). Because we focused on the decomposition process, we only used the community-weighted mean (CWM) of decomposers referred to as “proportion of meso- or macro-decomposers”. For each species, the data was coded into an affinity percentage score for each attribute. In the end, each soil had a total community composed of a percentage of each attribute. The CWM was obtained using equation 1 (Garnier *et al.*, 2004), where P_i is the relative abundance of species i , n is the number of Collembola species or macrofauna families/orders, and $Decomposer_i$ is the relative decomposer diet of species i .

$$(Eq. 1) \quad CWM = \sum_{i=1}^n P_i \times Decomposer_i$$

II.6. Statistical analyses

R Software (version 3.1.3, Development Core Team, 2015) was used for data processing. To study differences among soils and after checking normality and variance homogeneity using Shapiro Wilk's test and Bartlett's test, one-way ANOVA was performed, followed by Tukey's HSD test for paired comparisons in parametric tests ($P < 0.05$) for WHC, FDA hydrolysis, alkaline phosphatase activity, macrofauna density, Collembola richness, bacterial abundance, relative GP bacterial

abundance, AMC, mycorrhizal colonization, meso-decomposer relative abundance, bacterial and fungal community structure. Kruskal-Wallis test ($P < 0.05$) was used when parametric conditions were not met, for multiple comparisons of rank distribution, for exchangeable cations Ca, K, Mg and Na, available Cd, Zn and Pb, Olsen P, pH, CEC, C:N ratio, OM content, PAH concentrations, plant biomass and richness, urease, macro-decomposer relative abundance, macrofauna richness, Collembola density, fungal abundance, and relative GN bacterial abundance parameters. The CWM of decomposers was calculated using the FD package in R (Laliberté *et al.*, 2014). Significant differences were considered for $P < 0.05$; P-values are indicated for each measured variable in Table 3.1. Linear regression were tested *via* the lmtest package in R, and correlations were represented by the Pearson correlation coefficient (Hothorn *et al.*, 2015).

Multivariate analyses were performed to show the co-variation between abiotic and biotic or functional parameters. We used the ade4 package in R (Dray and Dufour, 2007). Firstly, a Principal Component Analysis (PCA1) was performed on 16 abiotic variables (OM, WHC, clay content, exchangeable cations Ca, K, Mg and Na, available Cd, Zn and Pb, Olsen phosphorus, pH, CEC, C:N, PAH concentrations, and soil age, from the date of the last anthropogenic action). A second PCA (PCA2) was performed on 11 biotic variables (bacterial abundance and richness, fungal abundance and richness, mycorrhizal colonization frequency, macrofauna density and richness, Collembola density and richness, plant biomass and richness). Finally, a third functional PCA (PCA3) was performed with 8 decomposition- and degradation-linked variables (FDA hydrolysis, alkaline phosphatase activity, AMC, urease activity, macro-decomposer relative abundance, meso-decomposer relative abundance, and relative abundance levels of the GP and GN bacterial PAH-degrading genes). Co-inertia analyses were performed to analyse (i) co-variation of abiotic and biotic parameters (PCA1-PCA2) and (ii) co-variation of abiotic and functional parameters (PCA1-PCA3) to identify similar structures in the dataset according to abiotic, biotic, and functional parameters.

III. RESULTS AND DISCUSSION

III.1. Abiotic characteristics of the soils

III.1.1. Fertility parameters

The six soils exhibited contrasting fertility parameters (Table 3.1). The highest clay content was in soil B, *i.e.* the non-hazardous waste landfill, probably due to fine construction and demolition waste contained in the landfill process, that was likely to be of clay size (Rodrigues *et al.*, 2013). The OM content was significantly higher (an average 39.7‰) in soil A (an experimental constructed soil) than in the other 5 soils. In soil A, the original addition of OM mainly under the form of compost during construction (Séré *et al.*, 2008) could explain the higher OM content. Soils B, E and F had OM contents comparable to grassland soil (4.3‰) and soils of urban, industrial, traffic, mining and military areas (SUITMA) (6 to 8‰) (Mao *et al.*, 2014; Joimel *et al.*, 2016). The OM concentration in soil C (coking plant soil) was comparable to other coking plant soils (12 to 17‰, Biache *et al.*, 2008). The organic contaminants in soils A, C, D and E may have contributed to their OM content, but were not sufficient to explain differences in OM content since they all contained PAH concentrations in the same order of magnitude. WHC was significantly higher in soil A (Table 3.1) than in the other soils, probably because of the presence of OM and paper-mill sludge (Rawls *et al.*, 2003). Although clay plays a role in WHC (Roberts *et al.*, 2006), no relationship was found between these parameters for these soils. All 6 soils had a high C:N ratio, for example as compared to the C:N ratio of grasslands (around 10 according to Stauffer *et al.* (2014) and Ponge *et al.* (2013)) or to coal mine reclaimed land soils (Ingram *et al.*, 2005). However, the C:N values of our soils were in the range of values found in coking plant soils (Biache *et al.*, 2008) and in a landfill with illicit materials rich in metal contaminants including metallurgic slags, tailings and ashes (Dermont *et al.*, 2010). This suggests either resistant organic components or lower nitrogen contents in these soils. Soil D (settling pond soil) had the highest C:N ratio as compared to the other soils, maybe in link with the anthropogenic origin of the organic carbon in the parent material (steel sludge) associated with a poor nitrogen content (Dermont *et al.*, 2010). Thus, the decomposition rate, represented by AMC, was very low in this soil. The soils were all alkaline (pH 7.9 on average) with maximum pH values of 8.4 and 8.3 for soils D and F, respectively. In urban and industrialized areas, waste inputs under the form of gravel, rubble and concrete, have been shown to induce alkalisation (Morel *et al.*, 2005; Rokia *et al.*, 2014). All six soils had a low CEC ranging between 10 and 22 cmol⁺.kg⁻¹, so a lower capacity to hold nutrients as compared to grasslands (35 cmol⁺.kg⁻¹; Stauffer *et al.*, 2014) and to park or garden soils in urban areas (32 cmol⁺.kg⁻¹; Santorufo *et al.*, 2014). CEC was the lowest in soils D (settling pond) and F (constructed

and contaminated). For soil F, this corresponded to the low CEC values of the contaminated sludge and biopile-treated soil (4.7 and 7.5 $\text{cmol}^+.\text{kg}^{-1}$, respectively) that were analysed separately. For settling pond soils, a large range of values have been reported, from 10 (Cerqueira *et al.*, 2012) to 51.4 (Huot *et al.*, 2011) $\text{cmol}^+.\text{kg}^{-1}$, possibly due to different waste origins and compositions, such as iron waste and by-products or sludge from copper extraction, respectively. The highest CEC was found in soil A; it reflected the CEC value of the initially added green waste compost (42.5 $\text{cmol}^+.\text{kg}^{-1}$; Sere *et al.*, 2008).

Phosphorous concentration was significantly higher in soil A (62 $\text{mg}.\text{kg}^{-1}$) than in the other soils, probably due to the added green waste compost, with an originally available phosphorous content of 670 $\text{mg}.\text{kg}^{-1}$ (Sere *et al.*, 2008). Phosphorous is a dominant element in construction and demolition waste material (Butera *et al.*, 2014) but may not be available. This could explain the low available phosphorous concentration in soil B. The available phosphorous concentrations of the six soils were in the same order of magnitude as in SUITMA soils and grassland (45 and 31 $\text{mg}.\text{kg}^{-1}$, respectively, Joimel *et al.* (2016)). Among the six soils, the settling pond soil D had the significantly highest exchangeable Ca and Mg concentrations, with 2,031 $\text{mg}.\text{kg}^{-1}$ and 312 $\text{mg}.\text{kg}^{-1}$, respectively. High Ca and Mg concentrations were also found in another settling pond soil, composed of steel sludge notably rich in Ca (Huot, 2013). Soil A contained a higher exchangeable K concentration than the others, brought by the green waste compost (Séré, 2007). The exchangeable Na concentration was lower in the coking plant soils C and E than in the other soils, and was the highest in soil F (55 $\text{mg}.\text{kg}^{-1}$), suggesting a salinity problem in this constructed Technosol, as often reported in derelict soils (Wong and Bradshaw, 2003).

Soil A appeared to be the most fertile based on abiotic parameters, with a high OM content and a high available phosphorous concentration. Conversely, soils B, D and F seemed to be the least fertile, with low OM contents and low phosphorous concentrations. Soils C and E had intermediate fertility parameters as compared to the other ones.

Table 3.1 : Localization, physico-chemical and biological characteristics of the six derelict soils. Means $\pm$ standard deviations ($n=5$, except F where $n=4$). Means with different letters are significantly different ($P < 0.05$) using one-way ANOVA or Kruskal-Wallis test. Localization in Lambert 93 projection in m; age is the time lapse from the last anthropogenic action (years); clay and WHC in %, CEC in $\text{cmol}^+.\text{kg}^{-1}$ dry soil; Olsen Phosphorous in $\text{mg}.\text{kg}^{-1}$ dry soil; bacterial and fungal density in 16S and 18S rDNA gene copy numbers. g^{-1} dry soil, respectively; bacterial and fungal diversity are expressed as ribotype numbers; mycorrhizal colonization is the frequency of colonized roots (%); Collembola and macrofauna density are the numbers of individuals. m^{-2} ; Collembola, macrofauna and plant diversity are taxonomic richness; plant biomass is in kg of shoot dry weight. m^{-2} ; the relative density of GP and GN PAH-RHD α are the ratio between GP or GN PAH-dioxygenase genes and the 16S rDNA gene copy number. g^{-1} dry soil respectively in ‰; the proportion of the meso- and macro-decomposers is in ‰; AMC in $\text{ppm CO}_2.\text{mg}^{-1}$ dry soil. h^{-1} . Statistical test: 1 for one-way ANOVA test; 2 for Kruskal-Wallis test.

	A	B	C	D	E	F		
Site type and name	Experimental constructed soil (Biotechnosol)	Non-hazardous waste landfill (Retonfey)	Coking plant site (Homécourt)	Settling pond site (Moyeuvre-Petite)	Coking plant site (Micheville)	Experimental constructed and contaminated soil (Jeandelaincourt)	Statistical test	P-value
Localization	E:918202 N:6905686	E:942352 N:6897630	E:918487 N:6905891	E:920222 N:6911528	E:942262 N:6897475	E:938477 N:6864617		
Age	8	4	35	34	40	2		
Texture	Silt loam	Silty clay loam	Loamy sand	Sandy loamy	Loam	Silt loam		
Clay	11	40	6	4	27	15		
Water holding capacity (WHC)	95 $\pm$ 7 a	59 $\pm$ 8 b	63 $\pm$ 5 b	58 $\pm$ 4 b	70 $\pm$ 1 b	64 $\pm$ 1 b	1	0.02
Cation exchange capacity (CEC)	22.0 $\pm$ 2.9 a	17.2 $\pm$ 3.3 b	17.2 $\pm$ 1.8 b	11.3 $\pm$ 0.7 c	15.5 $\pm$ 1.4 b	10.1 $\pm$ 0.4 c	2	0.01
pH	7.9 $\pm$ 0.2 a	7.9 $\pm$ 0.1 a	7.9 $\pm$ 0.1 a	8.4 $\pm$ 0.2 b	7.2 $\pm$ 0.2 c	8.3 $\pm$ 0.4 b	2	<0.001
Olsen phosphorous	62 $\pm$ 5 a	25 $\pm$ 17 c	39 $\pm$ 16 bc	44 $\pm$ 10 b	36 $\pm$ 2 bc	44 $\pm$ 10 bc	2	<0.001
C:N	30 $\pm$ 6 bc	28 $\pm$ 6 c	26 $\pm$ 5 c	65 $\pm$ 20 a	20 $\pm$ 3 e	37 $\pm$ 16 b	2	<0.001
Organic matter (‰)	39.7 $\pm$ 5.9 a	3.2 $\pm$ 1.4 c	16.7 $\pm$ 6.3 b	13.3 $\pm$ 2.8 b	4.8 $\pm$ 3.0 c	2.8 $\pm$ 0.8 c	2	<0.001
Ca _{exchangeable}	292 $\pm$ 44 d	713 $\pm$ 144 c	903 $\pm$ 405 c	2031 $\pm$ 240 a	786 $\pm$ 84 c	1123 $\pm$ 130 b	2	<0.001
K _{exchangeable}	706 $\pm$ 105 a	491 $\pm$ 24 b	155 $\pm$ 36 e	377 $\pm$ 30 c	131 $\pm$ 50 e	218 $\pm$ 36 d	2	<0.001
Mg _{exchangeable}	84 $\pm$ 14 cd	152 $\pm$ 38 b	103 $\pm$ 6 c	312 $\pm$ 47 a	47 $\pm$ 15 e	72 $\pm$ 34 d	2	<0.001
Na _{exchangeable}	37 $\pm$ 19 a	34 $\pm$ 28 a	11 $\pm$ 3 b	42 $\pm$ 11 a	14 $\pm$ 14 b	55 $\pm$ 29 a	2	<0.001
Ca _{total}	187 $\pm$ 10 a	74 $\pm$ 29 d	99 $\pm$ 15 c	159 $\pm$ 9 b	14 $\pm$ 3 e	55 $\pm$ 6 d	2	0.01
K _{total}	3.2 $\pm$ 0.3 d	5.9 $\pm$ 1 a	1.9 $\pm$ 0.5 e	3 $\pm$ 0.3 d	4.7 $\pm$ 0.2 b	3.5 $\pm$ 0.1 c	2	<0.001
Mg _{total}	6.9 $\pm$ 0.4 bc	7.6 $\pm$ 1.2 b	5.7 $\pm$ 0.6 c	14.6 $\pm$ 0.9 a	4.2 $\pm$ 0.3 d	5.7 $\pm$ 0.3 cd	2	<0.001
Na _{total}	0.41 $\pm$ 0.05 b	0.49 $\pm$ 0.2 b	0.41 $\pm$ 0.04 b	0.88 $\pm$ 0.07 a	0.20 $\pm$ 0.02 c	0.38 $\pm$ 0.1 b	2	0.01

Pollutants	mg.kg ⁻¹ dry soil	Cd _{available}	0.22±0.05	b	0.03±0.01	e	0.16±0.05	c	0.15±0.01	c	0.10±0.03	d	9.07±1.5	a	2	<0.001
		Pb _{available}	13±3	b	14±10	b	46±14	a	18±5	b	14±6	b	110±60	a	2	<0.001
		Zn _{available}	29±9	c	8±6	d	45±20	ab	25±6	c	7±2	d	308±189	a	2	<0.001
		Cd _{total}	1.1±0.5	b	0.1±0.2	b	0.1±0.7	b	1.4±0.1	b	0.1±0.1	b	23.6±6.9	a	2	<0.001
		Pb _{total}	150±53	c	41±26	d	346±106	ab	339±50	b	37±10	d	460±73	a	2	<0.001
		Zn _{total}	345±37	c	131±2	d	1162±396	b	1196±122	b	116±23	d	1813±302	a	2	<0.001
		Σ16 PAH (US-EPA)	170±49	a	12±12	b	179±136	a	97±54	a	142±90	a	10±4	b	2	0.03
		Microorganisms	Bacterial density (×10 ¹⁰)	5.4±1.2	a	2.2±0.7	b	4.8±0.7	a	1.4±0.5	b	2.6±1	b	1.5±0.4	b	1
Bacterial richness	9.6±0.9		d	13.2±1.8	ab	15.2±0.8	a	15.8±1.9	ab	14.0±3.5	bc	9.0±2.4	cd	1	<0.001	
Fungal density (×10 ⁸)	10.9±4.5		a	3.4±0.7	b	4.9±0.6	b	1.7±0.5	c	5.1±1.2	b	1.2±0.4	c	2	<0.001	
Fungal richness	3.6±0.9		b	4±1.2	b	7.4±1.1	a	4.4±0.5	b	3.6±0.5	b	3.3±1.5	b	1	<0.001	
Mycorrhizal colonization	76±20		ab	92±8	a	86±12	ab	82±9	ab	96±4	a	71±7	b	1	0.04	
Fauna	Collembola density (×10 ³)	21±15	c	17±8	c	48±29	a	91±41	a	22±10	bc	41±22	ab	2	0.004	
	Collembola richness	3.4±1.3	b	4.2±0.8	ab	6±1.4	ab	7±0.8	a	7±2.2	a	5.8±1	a	1	0.005	
	Macrofauna density	611±219	a	668±205	a	314±138	b	214±37	bc	118±108	c	205±15	bc	1	<0.001	
	Macrofauna richness	10.2±2	a	11.6±4	a	6.8±3	b	6.4±1	b	3.0±2	c	6.5±1	b	2	0.001	
Flora	Plant biomass	3.0±1.2	a	3.2±1.2	a	0.6±0.2	b	0.7±0.4	b	0.7±0.4	b	0.6±0.2	b	2	<0.001	
	Plant richness	2.2±0.8	b	4.4±0.9	b	10.2±1.6	a	7.2±1.8	a	13.0±3.7	a	12.3±1	a	2	<0.001	
Functional parameters	mU.g ⁻¹ dry soil	FDA hydrolysis	4.3±1.0	a	2.1±0.6	b	1.8±0.6	b	1.0±0.6	b	2.8±0.7	b	2.7±0.9	ab	1	<0.001
		Alkaline phosphatase activity	1.7±0.4	a	1.3±0.3	ab	1.6±0.4	a	0.9±0.4	b	0.5±0.2	b	1.0±0.2	ab	1	<0.001
		Urease activity	175±55	a	75±32	b	172±47	a	78±6	b	155±20	a	71±21	b	2	0.002
		Average mineralization capacity (AMC)	2654±501	a	1714±521	b	1880±289	b	820±395	c	879±247	cd	380±96	d	1	<0.001
		Relative density of GP PAH-RHD α genes	1.2±0.3	a	0.3±0.1	c	0.7±0.1	bc	1±0.4	ab	0.9±0.2	ab	0.3±0.1	c	1	<0.001
		Relative density of GN PAH-RHD α genes	0.010±0.003	a	0.001±0.000	b	0.001±0.000	b	0.001±0.002	b	0.077±0.037	a	0.001±0.001	b	2	<0.001
		Proportion of mesodecomposers	85±10	a	80±9	a	84±7	a	88±3	a	92±4	a	82±9	a	1	0.170
		Proportion of macrodecomposers	42±11	a	37±18	a	27±12	ab	7±7	b	37±18	a	25±1	ab	2	<0.001

III.1.2. Pollutant concentrations

Soils A, C, D and F had total Cd, Pb and Zn concentrations above natural geochemical backgrounds (Darmendrail *et al.*, 2000) following soil contamination by uncontrolled coking plant and steel production activities (Rachwal *et al.*, 2015). However, Cd, Zn and Pb concentrations were low as compared to values found in metal-polluted soils (Dudka and Adriano, 1997). Soil F had the highest available Cd, Pb and Zn concentrations (Table 3.1), because the contaminated sludge contained high metal concentrations, *i.e.* total concentrations of 284 (Cd), 5,108 (Pb) and 23,630 (Zn) mg.kg⁻¹. Soils B and E exhibited low metal contamination. The landfill in soil B had been constructed with non-contaminated materials. Although E soil was located on a coking plant site, the sampling was performed in the former gas condensation and extraction area, which was not a potential source of metal contamination.

PAH concentrations in the soils were moderate, indicating slight contamination. Anthropogenic soils can contain PAH concentrations beyond 1,000 mg.kg⁻¹ (Biache *et al.*, 2008; Ouvrard *et al.*, 2013). But PAH concentrations can largely vary in soils from coking plant sites owing to contamination heterogeneity, age, natural attenuation with time, and to remediation measures (Bourceret *et al.*, 2015). Due to the associated risks, highly PAH-contaminated soils cannot be left unused and have to be remediated or excavated. Therefore, derelict soils should have low or poorly available pollutant concentrations in order to be considered as a resource. PAH concentrations in our 6 soils were indeed low, below 200 mg.kg⁻¹, and statistically the lowest in soils B and F (Table 3.1). As already mentioned, soil B materials must be non-contaminated to be used in non-hazardous waste landfill. Soil F contained low PAH concentrations, because biopile treatment had been applied to eliminate these organic contaminants. The presence of 170 mg.kg⁻¹ of PAHs in the constructed soil A was surprising since green-waste compost and paper mill waste should be devoid of PAH contamination and the remediated soil had a low PAH concentration (46 mg.kg⁻¹; Séré, 2007). This PAH concentration may have been concentrated from the remediated soil toward the topsoil OM or have originated from aerial deposits (Desalme *et al.*, 2011). The presence of PAHs in the other soils (C, D and E) was linked to past industrial activities that generated organic contamination. We did not measure the available fraction of PAHs. However, in historically contaminated soils, such as coking plant soils, it is generally low due to aging (Ouvrard *et al.*, 2011; Barnier *et al.*, 2014).

III.2. Biological characteristics of the derelict soils

III.2.1. Microorganisms

Bacterial density was in the same order of magnitude in the six soils, and was in line with data from grasslands and brownfields (1.8×10^{10} and 1.6×10^{10} 16S rDNA gene copy numbers per g of dry soil, Cluzeau *et al.*, 2012). Fungal density was in the same order of magnitude as in coking plant wasteland (1.5×10^8 18S rDNA gene copy number per g of dry soil, Bourceret *et al.*, 2016). But we evidenced significant differences between our soils. Bacterial gene density was significantly higher in soils A and C than in the other four soils (Table 3.1). The abundance of fungal genes was also higher in soil A, then in soils C and E, than in the other soils. Microbial density was correlated with OM content ($R^2=0.51$, $P<0.001$ for bacterial density and $R^2=0.44$, $P<0.001$ for fungal density) and WHC ($R^2=0.45$, $P<0.001$ for bacteria and $R^2=0.64$, $P<0.001$ for fungi). Such correlations were reported previously in urban soils ($R=0.63$ and $R=0.39$ for organic carbon content and WHC respectively, Yang *et al.*, 2006) and in a post-fire ecosystem ($R=0.83$ for organic carbon content; Muñoz-Rojas *et al.*, 2016). The negative correlation between microbial density and the C:N ratio, and the positive correlation between nitrogen concentrations and bacterial ($R^2=0.60$; $P<0.001$) and fungal ($R^2=0.56$; $P<0.001$) densities suggest that nitrogen is a limiting factor for microbial growth in these soils.

Bacterial and fungal richness was higher in soil C than in the other ones (average values of 16 dominant bands for bacteria and 7.4 dominant bands for fungi). Soils A and F harboured the lowest microbial richness. In soil F, the low OM content and metal contamination could explain the low microbial diversity (Chodak *et al.*, 2013). In soil A, the high OM content may have boosted growth of a few dominant taxa and limited growth of the other taxa (Torsvik and Ovreas, 2002).

Plant roots were highly colonized by arbuscular mycorrhizal fungi, with a mean of $84 \pm 13\%$ mycorrhizal root frequency for the six soils, yet with slight differences among the soils. The mycorrhizal colonization rate was slightly but significantly lower in soil F than in soils B and E (Table 3.1). These differences could be related to metal pollutants since soil F had the highest total and available Cd, Zn and Pb concentrations. Arbuscular mycorrhizal association is a widespread terrestrial symbiosis that involves 80–85% of vascular plants (Meier *et al.*, 2012). It is beneficial to plants, especially in stressed environments (Miransari, 2010). This high level of symbiosis indicated an absence of metal toxicity in the soils, since arbuscular mycorrhizal colonization is negatively affected by metal pollution (Vogel-Mikuš *et al.*, 2005). The presence of arbuscular mycorrhizal fungi in metal-polluted soils has been extensively shown (*e.g.* Del Val *et al.*, 1999), as

well as their potential role in reducing metal toxicity to plants. It is also a key indicator of soil quality (Gianinazzi *et al.*, 2006).

III.2.2. Fauna

Collembola density was maximal in soil D with 91,000 individuals per m² (Table 3.1) and was significantly higher than in soils A, B and E. It was correlated with the soil exchangeable Ca ($R^2=0.48$; $P<0.001$) and Mg ($R^2=0.40$; $P<0.001$) concentrations. Such a relationship between Collembola and exchangeable cations (Cassagne *et al.*, 2003) or litter quality, notably Ca and Mg contents (Rizvi *et al.*, 2012) has already been observed. Collembola density in our six soils was 1.4 to 7.5 times higher than in meadow (12,103 ind.m⁻²; Cluzeau *et al.*, 2012), SUITMA (around 11,616 ind.m⁻²; Joimel *et al.*, 2017), or urban soils (5,000 to 15,000 ind.m⁻²; Santorufo *et al.*, 2014). Thus, derelict soils seem to be a favourable habitat for Collembola, especially those with high exchangeable Ca and Mg concentrations.

Collembola richness was significantly higher in soils D, E and F than in the other soils (Table 3.1). It was correlated with plant richness ($R^2=0.44$, $P<0.001$). Sabais *et al.* (2011) also showed that plant species richness drove Collembola diversity in temperate grassland. However, they found a correlation between plant richness and Collembola density that we did not find in the present study. Likewise, Joimel (2015) showed a correlation between Collembola density and plant richness in an uncultivated ecosystem re-colonized by spontaneous vegetation. The response of Collembola to increased plant richness could be due to changes in abiotic factors. For example, mixed litters support more diverse communities than single species litters, because they provide higher habitat complexity and in turn higher diversity of food resources (Bardgett, 2002). Fauna diversity is less affected by soil properties than density (Nahmani and Lavelle, 2002; Santorufo *et al.*, 2012). Soils A and B harboured the same Collembola richness as grassland (Cluzeau *et al.*, 2012) or urban soils (Santorufu *et al.*, 2014) but soils C, D, E and F harboured higher richness than these soils. Therefore, derelict soils offer a heterogeneous habitat likely to enhance soil animal diversity (Bardgett, 2002; Cole *et al.*, 2006) and appear to be a biodiversity reserve of Collembola.

As for the macrofauna, soils A and B had the highest density and richness values (Table 3.1). The total macrofauna density was correlated with plant biomass ($R^2=0.55$, $P<0.001$), probably due to the potential stock of plant litter and habitats that it represents for macrofauna communities. Cole *et al.* (2006) showed that earthworm and mesofauna density increased with an increase in plant productivity and suggested that soil biotic communities were mainly regulated by bottom-up forces. We also observed a high correlation between plant biomass and earthworm density ($R^2=0.62$, $P<0.001$), and also with total macrofauna density. The presence of pollutants could

influence invertebrate density and diversity. Several authors found decreased macrofauna density along with heavy metal contamination (Nahmani and Lavelle, 2002; Nahmani *et al.*, 2005; Hedde *et al.*, 2012). This decrease could contribute to explain results observed in soils C and F. Soils A and B contained the same macrofauna density as a meadow ecosystem (around 700 ind.m⁻²; Cluzeau *et al.*, 2012) and open post-mining sites (around 570 ind.m⁻²; Frouz *et al.*, 2013) and a higher density than an orchard ecosystem (around 440 ind.m⁻²; Walmsley and Cerdà, 2017). A high correlation was found between macrofauna density and richness ($R^2=0.72$, $P<0.001$). Reviews by Cole *et al.* (2006) and Bardgett (2002) stated that competitive interactions between macrofaunal species can be limited in soils with resource partitioning and niche differentiation, maintaining soil biodiversity despite increased density. As derelict soils offer a heterogeneous habitat, they provide for the highly potential co-existence of several different species.

III.2.3. Herbaceous plants

The biomass of aboveground plants was significantly higher in soils A and B than in the other soils, as opposed to plant diversity estimated from plant richness (Table 3.1). Plant biomass was correlated with the exchangeable K concentration ($R^2=0.60$; $P<0.001$), which suggests a potassium limitation in the soils. Herbaceous plant richness was negatively correlated with plant biomass ($R^2=0.54$, $P<0.001$). Nutrient deficiency and/or pollution affect the coexistence of plant species by limiting dominant plants and maintaining high plant diversity (Heinze *et al.*, 2015). Shoot biomass and plant richness in these soils were similar to those of spontaneous urban habitats, with a mean of 0.34 kg of plant shoot per m² and 14.7 species per m² (Robinson and Lundholm, 2012). In comparison with urban habitats such as lawns and remnant natural areas (forests) (Robinson and Lundholm, 2012), aboveground biomass values in our derelict soils was low. Details of taxonomical herbaceous community are presented in appendix 6 of the manuscript.

III.3. Functional parameters of the derelict soils

The meso-decomposer proportion was similar in the six soils, with 85±8% of the mesofauna community. Thus, our results showed no differences among the soils in trophic interactions at the mesofauna community scale. The proportion of macro-decomposers among the invertebrate community was significantly higher in soil A, B and E, than in soil D. Such proportions of macro- and meso-decomposers were also found in a non-polluted soil and in a forest ecosystem on polluted soil (Lucisine *et al.*, 2015). This can be explained by the negative correlation between the proportion of macro-decomposers and Collembola density ($R^2=0.46$; $P<0.01$). When Collembola density was low (soils A, B and E), the macro-decomposer proportion increased thanks to higher resource quantity and quality. For example, Grubert *et al.* (2016) recently found that the

earthworm *Lumbricus terrestris* reduced the availability of litter nitrogen to other soil animal detritivores, in particular to Collembola *Heteromurus nitidus*.

As regards enzyme activity, the highest FDA hydrolysis activity level was in soil A. Cébron *et al.* (2011) showed that FDA hydrolysis increased with growing vegetation. Our results showed that the highest activity level was found in one of the soils with the highest plant biomass. However, no correlation was found between FDA hydrolysis and plant biomass. No correlation was found either with other parameters that could affect FDA hydrolysis, such as metal concentration (Li *et al.*, 2009), soil texture (Vinh-Freitas *et al.*, 2017), or OM (Muscolo *et al.*, 2014). Alkaline phosphatase activity was the highest in soils A and C. Significant correlations between alkaline phosphatase activity and abiotic parameters such as OM (Lucas-Borja *et al.*, 2016), available phosphorous (Stauffer *et al.*, 2014) and metal concentrations (Li *et al.*, 2009) have been reported. However, we found no correlation between alkaline phosphatase activity and other parameters. Urease activity was higher in A, C and E soils than in soils B, D and F. The presence of heavy metals can decrease urease activity (Thavamani *et al.*, 2012), but we found no such relationship. However, we found a correlation between urease activity and bacteria density ($R^2=0.57$, $P<0.001$), probably in relation to the soil nitrogen limitation. Enzyme activity in soil A was similar to the data obtained for the same enzymes in grassland (Stauffer *et al.*, 2014). Similarly to enzyme activity, AMC was significantly higher in soil A, and the soils ranked as follows based on their mineralization capacity: $A>B=C>D=E=F$. AMC was strongly correlated with bacterial ($R^2=0.60$, $P<0.001$) and fungal densities ($R^2=0.58$, $P<0.001$). Other authors also found a correlation between microbial abundance (*via* the carbon content in the microbial biomass) and the soil basal respiration (Pavan Fernandes *et al.*, 2005; Chodak *et al.*, 2013). The carbon mineralization rate reflects OM availability to microorganisms (Stauffer *et al.*, 2014) and has often been used as an indicator of soil biological functioning and quality (Schloter *et al.*, 2003; Bastida *et al.*, 2008; Muñoz-Rojas *et al.*, 2016). Soil A displayed the highest biological functioning, whereas the F has the lowest.

We also studied the soil capacity to degrade PAH compounds. In the PAH-contaminated soils (A, C, D, E), the relative density of GP PAH-degrading genes represented 0.7 to 1.2‰, while it was significantly lower in soils B and F that displayed very low PAH concentrations, as shown previously by Cébron *et al.*, (2008). The relative density of GN PAH-degrading genes was much lower than the density of GP PAH-degrading ones, as shown in PAH-polluted soils (Uyttebroek *et al.*, 2006), and was slightly higher in soils A and E than in the other soils. According to Leys *et al.* (2005), light-molecular-weight PAHs are mainly degraded by GN r-strategists. However, we found no difference in the concentrations of light-molecular-weight PAHs in soils A or E as compared to the other soils (data not shown).

III.4. Co-variation between abiotic and biotic parameters in the derelict soils

To compare the co-variation of abiotic and biotic parameters in the six soils, we carried out a first co-inertia analysis (Figure 3.3). The two projected inertias represented 81% of total inertia. The analysis showed a high co-variation between biotic and soil physico-chemical parameters ($RV=0.60$; Monte-Carlo permutation test, $P=0.001$). The soil samples, ordinated under abiotic or biotic parameters, were separated in four groups mainly along the first projected inertia axis (67%): A; B; C and E; D and F.

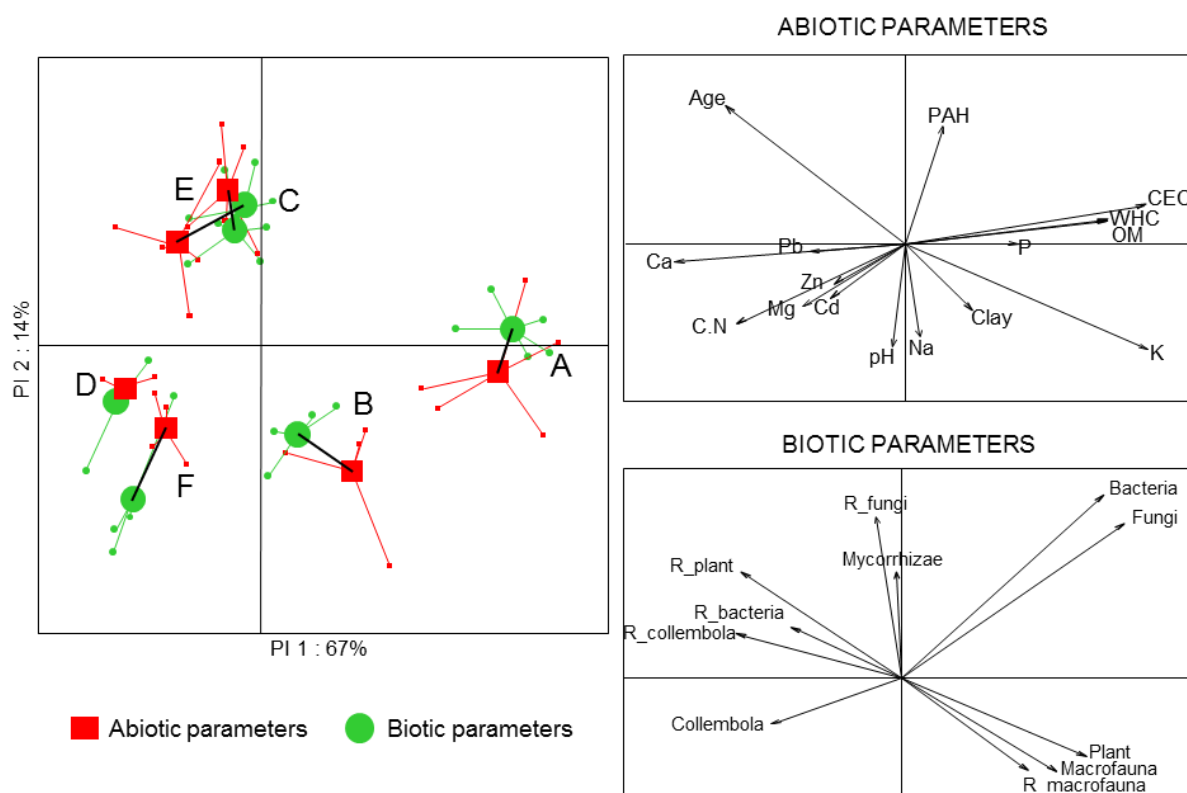


Figure 3.3 : Co-inertia analysis of abiotic and biotic parameters of the six derelict soil samples. Red squares and green circles represent the PCA sample map according to abiotic and biotic variables, respectively. The biggest squares and circles are barycenters. A, B, C, D, E and F are the soil names. PAH=sum of the 16 PAH concentrations; Clay=% of clay; P= available phosphorous (Olsen method); OM=Organic Matter; WHC=Water Holding Capacity; CEC=Cation Exchange Capacity; C:N=carbon/nitrogen ratio; [Exchangeable cations by cobaltihexamine] Ca=calcium; Na=sodium; K=potassium; Mg=magnesium. [Elements] Pb=lead; Zn=zinc; Cd=cadmium; Age=from the date of the last anthropogenic action. R_=richness (Collembola=species richness; Plant=genus or family richness; Macrofauna=family richness; Fungi and bacteria=number of ribotypes); Plant=plant biomass; Collembola and Macrofauna=density; Fungi and Bacteria=rDNA gene copy density; Mycorrhizae=mycorrhizal colonization frequency.

Among the six soils, soil A (amended constructed soil) was characterized by higher values of WHC, CEC, K and OM content and lower values of Ca content, C:N ratio and age than the other soils. These

abiotic parameters positively co-varied with microbial density (bacteria and fungi), and to a lower extent with plant biomass and richness and macrofauna density. The settling pond soil (D) and the heavy metal-contaminated constructed soil (F) grouped based on abiotic and biological parameters. These soils were also characterized by a high C:N ratio linked to high Collembola richness. Finally, the two coking plant soils C and E had close abiotic and biotic features. They were separated from soils A and B by the first axis and from soils D and F by the second axis. Age also appeared to be a discriminating parameter, with soils A and B the youngest, D and F intermediate, and C and E the oldest. The age parameter co-varied positively with plant richness but negatively with plant biomass, macrofauna density and richness. Different studies showed that soil colonization by living organisms after a disturbance is fast (Frouz *et al.*, 2008; Dunger and Voigtländer, 2009; Thion *et al.*, 2012; Lucas-Borja *et al.*, 2016). In a field experiment with polluted soil and thermally treated soil, fungal communities seemed to have stabilized after 5 years (Thion *et al.*, 2012b). Plant and faunal communities also re-colonized disturbed soils rapidly. For example, Collembola communities settled a few months after soil waste deposition (Dunger *et al.*, 2002), and earthworm communities after 5 years (Eijsackers, 2010). Plant and macrofauna components were present in post-mining soils in less than 15 years (Frouz *et al.*, 2008).

The biotic parameters, that contributed to discriminate the six derelict soils, were plants, Collembola, macrofauna, bacterial and fungal density, and taxon richness of plants, Collembola and macrofauna. Several authors pointed out modifications of biological parameters along anthropogenic gradients, especially along a pollution gradient or with different land uses. For example, microbial biomass was affected by metal pollution (Kandeler *et al.*, 2000), macrofauna density was lower in a highly polluted soil (Nahmani and Lavelle, 2002), Collembola communities were modified by land uses (Ponge *et al.*, 2003) or an urbanization gradient (Kuznetsova, 2003). In the present study, although soils A and F differed in many parameters, there was no clear gradient of any parameter. None of the six soils was highly contaminated, so density/taxon richness seemed to be driven more by fertility parameters than by pollution. Several authors also showed that organism density or taxon richness were correlated with soil properties such as the pH, the OM content or the water-holding capacity (Pižl *et al.*, 2009; Santorufo *et al.*, 2012; Muñoz-Rojas *et al.*, 2016; Walmsley and Cerdà, 2017). However, most of the studies classified the soils or land uses according to only one biotic group (Ponge *et al.*, 2003; Gulvik, 2007; Ruiz *et al.*, 2011). All soils hosted a relatively high biodiversity, but differences in biotic parameters were observed among them. This raises the question of which parameter should be used to define the biological quality and the potential future use of derelict soils.

III.5. Co-variation between abiotic and functional parameters in the derelict soils.

We performed another co-inertia analysis (Figure 3.4) to analyse the functional and abiotic parameters of the soils. The two projected inertias represented 81% of total co-inertia, showing high co-variation of the functional and soil physico-chemical parameters ($RV=0.64$; Monte-Carlo permutation test, $P=0.002$). The soils were mainly separated along the first projected inertia axis (63% of total co-inertia), discriminating soils A, B-C-E and D-F into 3 groups.

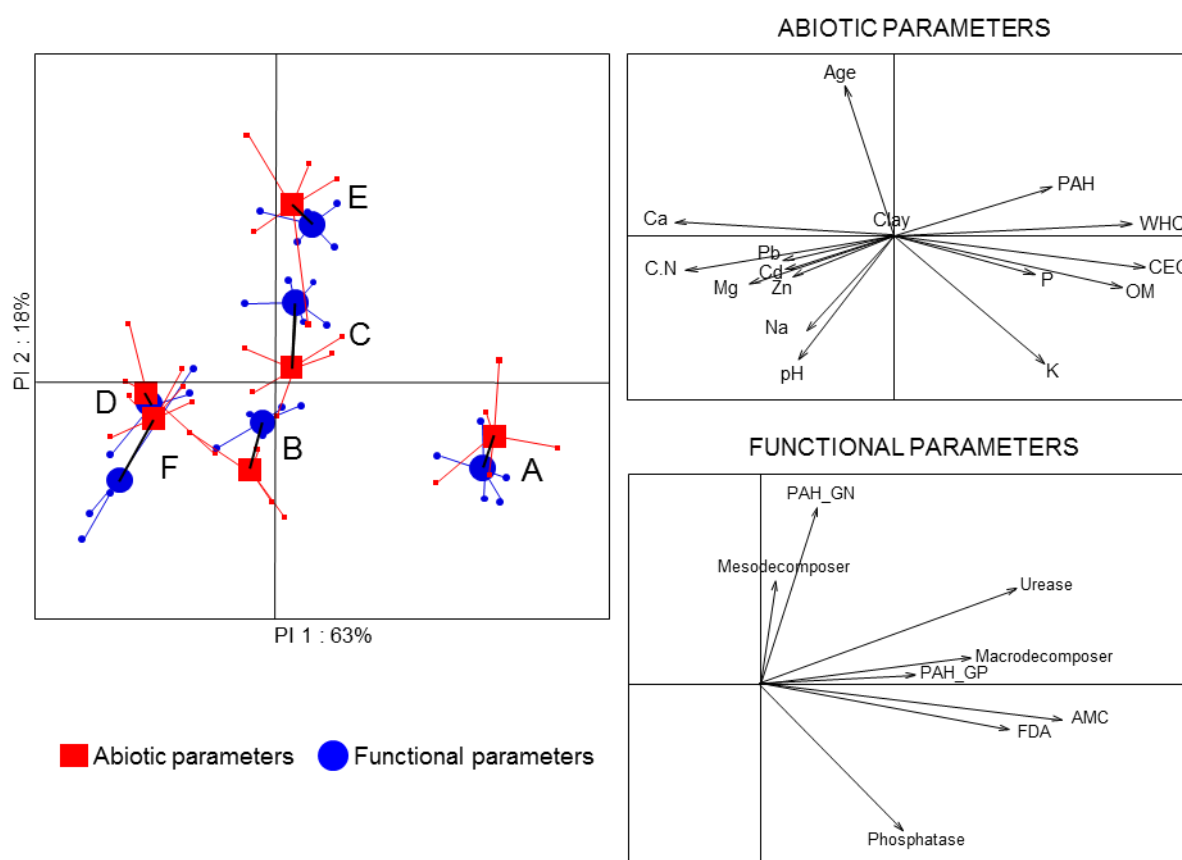


Figure 3.4 : Co-inertia analysis of abiotic and functional parameters of the six derelict soils (29 samples). Red squares and blue circles represent the PCA sample map according to abiotic and functional variables, respectively. The biggest squares and circles are barycenters. A, B, C, D, E and F are the soil names. PAH=sum of the 16 PAH concentrations; Clay=% of clay; P= available phosphorous (Olsen method); OM=Organic Matter; WHC=Water Holding Capacity; CEC=Cation Exchange Capacity; C:N=carbon/nitrogen ratio; [Exchangeable cations by cobaltihexamine] Ca=calcium; Na=sodium; K=potassium; Mg=magnesium. [Elements] Pb=lead; Zn=zinc; Cd=cadmium; Age=from the date of the last anthropogenic action. Macro-decomposer=community-weighted mean of decomposers in the macrofauna. Meso-decomposer=community-weighted mean of decomposers in the mesofauna. Urease=urease activity; Phosphatase=phosphatase activity; FDA=FDA hydrolysis activity; AMC=Average Mineralization Capacity; GP_PAH=relative density of the PAH-dioxygenase gene in Gram-positive bacteria; GN_PAH= relative density of the PAH-dioxygenase gene in Gram-negative bacteria.

As in the previous analysis (Figure 3.3), the amended constructed soil A was discriminated from the other soils along the 1st co-inertia axis by higher macro-decomposer proportion, urease activity, FDA hydrolysis activity, AMC, and proportion of Gram-positive PAH-dioxygenase bacteria and the same abiotic parameters as in the first co-inertia analysis. As in figure 3.3, the settling pond soil D and the contaminated constructed soil F were opposite from soil A along the 1st co-inertia axis. Both soils had a relatively low AMC, related to their high C:N ratio. Soils B, C and E were separated from soil A by lower enzyme activity levels, macro-decomposer numbers and PAH degraders. However, they were discriminated along the second co-inertia axis (18% of total co-inertia) by the pH, K, clay and age parameters and also by phosphatase activity and GN bacterial PAH degraders.

The soils differed by their functional parameters, especially relative macro-decomposer density, enzyme (urease, phosphatase and FDA hydrolysis) activity, AMC and both GP and GN microbial PAH degraders. As in the first co-inertia analysis, age appeared to be an important variable discriminating the soils, with A the oldest and E the youngest. However, the use of functional parameters separated soils E and C that were not discriminated using biotic parameters (Figure 3.3). The functional parameters assessed in our study only referred to potential functions since enzyme activities and AMC were measured in laboratory conditions and not *in situ*. Likewise, we quantified the PAH-degrading gene but did not study gene expression; yet, a gene can be present without being expressed (Torsvik *et al.*, 1996). As for microbial functions, the proportions of macro- and meso-decomposers also reflected potential functions since we used the community-weighted means based on literature data.

The two co-inertia analyses showed that several biotic and functional parameters discriminated the soils. Classifying these soils along a single biotic parameter gradient was not possible since most of the biotic parameters did not co-vary. For instance, some of the soils had a higher microbial density but lower plant richness although others had higher macrofauna richness but lower mesofauna density. In contrast, most of the functional parameters co-varied, suggesting that soils can be discriminated based on their relative decomposition functions. Thus, soil A appeared to have the highest level of functional parameters, due to OM and nutrient elements in the green-waste compost. The characteristics of the substrates and materials used for constructed soils may therefore be a key parameter for a potential re-use of the derelict soils. Soils F and D appeared to have the lowest levels of functional parameters. Soil F had a parent material poor in OM and nutrient elements, and a high C:N ratio, with a high heavy metal content, leading to a low functional level. Soil D was characterized by a high C:N ratio, suggesting a nitrogen limitation for microbial biomass and decomposition process. Clustering of the soils differed according to the

parameters, whether biotic or functional. Soils A, D and F were characterized in the same way whether based on biotic or functional parameters, but soils B, C and E were not.

III.6. Biotic interactions in the derelict soils

Physico-chemical parameters strongly affected the biodiversity and functional parameters of the derelict soils, as shown in co-inertia analyses, but we wondered whether interactions between biological components could be identified and might affect soil quality and potential valorization. Indeed, as previously described, herbaceous plants richness was correlated with plant biomass, total macrofauna density was correlated with plant biomass, and Collembola richness was correlated with plant richness. Robinson and Lundholm (2012) underlined that plant abundance and variety in urban land appeared to support a more diverse invertebrate community than other habitats. As aboveground biota communities drive belowground biota communities, plant community composition strongly influences the community composition of belowground organisms and their activity (Wardle *et al.*, 2004). In our study, the proportion of macro-decomposers was negatively correlated with collembola density and macrofauna density was correlated with macrofauna richness. There is a growing number of studies on influences of biotic interactions on soil biodiversity (Wardle, 2006; Wisz *et al.*, 2013; Bardgett and Van Der Putten, 2014; Singh *et al.*, 2014) and soil biotic communities are mainly regulated by bottom-up forces (Cole *et al.*, 2006). Our results also show that biotic interactions play a role in community settlement. Therefore, biotic interactions in the derelict soils are related to, and should be considered to assess soil biological quality. However, the consequences of biotic and functional differing characteristics on the potential re-use of the derelict soils are not clearly known.

IV. CONCLUSION

A comparison of abiotic, biotic and functional parameters in six soils highlighted that derelict soils are living soils, harbor a high soil biodiversity and can be functional for carbon mineralization and decomposition. The six soils displayed physico-chemical characteristics similar to urban soils, SUITMAs or grasslands, and most of them contained low contaminant concentrations. So their biodiversity was driven more by fertility parameters than by pollution. All biotic parameters, except the mycorrhizal colonization level, and functional parameters such as macro-decomposer proportion, enzyme activity, AMC, and microbial PAH degraders discriminated these derelict soils. The green-waste compost-amended constructed soil displayed the highest quality in terms of fertility and functional parameters, while the settling pond soil and the heavy metal-contaminated

constructed soils displayed the lowest (low fertility parameters and low functional levels). The two coking plant soils and the non-hazardous waste landfill soil displayed intermediate quality and different characteristics depending on biotic or functional parameters. These results support the emerging concept of multiple uses of soils, and the need to consider productivity parameters as well as broader abiotic, biotic and functional parameters. This study shows that certain derelict soils could be considered as a resource and have multiple uses such as supporting plant biomass production and harboring a biodiversity reserve.

Acknowledgements

This work was carried out within the GISFI (www.gisfi.fr) within the framework of the LORVER project (www.lorver.org) funded by the French Lorraine Region and the European Regional Development Fund (ERDF). The authors wish to thank the technical staff of the GISFI, LIEC and LSE, particularly Alain Rakoto.

Chapitre 4 :

La structure fonctionnelle des communautés de collemboles et de la macrofaune des sols délaissés dépend des paramètres abiotiques



Il est reconnu que les organismes du sol jouent des rôles fondamentaux dans le fonctionnement des écosystèmes (Lavelle et Spain, 2001), ce qui amène à considérer l'étude de la biodiversité comme un enjeu majeur dans la caractérisation des sols fortement anthropisés (Gardiner *et al.*, 2013; ADEME, 2014; Hodecek *et al.*, 2016). Parmi les différents compartiments biotiques composant la biodiversité, la faune du sol regroupe un ensemble d'organismes d'intérêt pour caractériser le fonctionnement des sols. En effet, de nombreuses études ont montré le lien entre la diversité taxonomique et fonctionnelle de la faune et les paramètres physico-chimiques des sols fortement anthropisés, permettant de souligner les perturbations existantes dans ces sols (Hedde *et al.*, 2012 ; Wood *et al.*, 2015 ; Rosenfield et Müller, 2017; Sechi *et al.*, 2017). Ainsi, une étude approfondie des communautés faunistiques est une approche pertinente pour caractériser les sols délaissés. Toutefois, l'étude de ces organismes se focalise souvent sur un seul groupe biotique (collemboles, acariens, coléoptères par exemple) alors que l'étude de plusieurs groupes biotiques permettrait de mieux caractériser ces milieux.

Dans le chapitre précédent, nous avons montré que les sols délaissés étaient caractérisés par des diversités en collembole et en macrofaune différentes en fonction des sols. Ces résultats, basés sur un indice global (richesse taxonomique), nous limitent dans l'étude des différences entre les sols délaissés. De ce fait, une étude plus approfondie de la structure des communautés faunistique est nécessaire. De plus, nous avons vu dans le chapitre précédent que les sols délaissés industriels ont des caractéristiques physico-chimiques particulières (faible fertilité et parfois contaminés) laissant supposer une structure taxonomique et fonctionnelle des communautés faunistiques également particulière.

Dans ce 4^{ème} chapitre, les structures taxonomiques et fonctionnelles des communautés des deux groupes d'invertébrés précédemment cités ont été étudiées ; les collemboles et la macrofaune. Les invertébrés ont été échantillonnés sur les 6 sols délaissés étudiés dans le chapitre précédent. Dans ce chapitre, l'étude de la structure fonctionnelle des communautés est basée sur les traits et préférences écologiques de la faune, dont la plupart des données sont issues de la base de données BETSI. Tout en caractérisant la structure taxonomique des communautés, la structure fonctionnelle a été confrontée aux paramètres abiotiques, c'est-à-dire aux caractéristiques des sols liées à la fertilité et à la contamination.

Nous avons mis en évidence que les paramètres de fertilité (la concentration en MO, le ratio C:N, les concentrations en P, Ca et Mg ainsi que la CEC et les teneurs en argiles) et les concentrations en contaminants (ETM et HAP) modifiaient la structure taxonomique et fonctionnelle des communautés de collemboles et de la macrofaune dans les sols délaissés étudiés. Ainsi, le sol construit et amendé avec du compost (sol A) présente une communauté ayant des traits et

préférences écologiques caractéristiques des milieux riches et stables. Pour les collemboles, cela se traduit par une sélection d'espèces ayant un mode de vie eu-edaphique et des traits liés à la vie en profondeur. Par contre, le sol construit et contaminé en ETM (sol F) présente une communauté plutôt caractérisée par des espèces adaptées à la vie en surface pour les collemboles, qui témoigne d'une sélection d'espèces tolérantes aux perturbations. Toutefois, des paramètres autres que physico-chimiques ou édaphiques semblent intervenir dans la sélection des espèces. En effet, de nombreux traits et préférences écologiques mis en évidence sont caractéristiques d'espèces retrouvées dans des milieux pauvres en végétation. De plus, les milieux alentours (forêts ou prairies) pourraient jouer un rôle important dans les traits et préférences écologiques des espèces retrouvées dans les sols délaissés.

Functional structure of Collembola and soil macrofauna communities depends on abiotic parameters in derelict soils

Quentin VINCENT ^{1,2}, Corinne LEYVAL ¹, Thierry BEGUIRISTAIN ¹ and Apolline AUCLERC ².

¹. Université de Lorraine, CNRS, Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux (LIEC), UMR 7360, Vandoeuvre-lès-Nancy, France.

². Université de Lorraine, INRA, Laboratoire Sols et Environnement (LSE), UMR 1120, Vandoeuvre-lès-Nancy, France.

Article soumis dans **Applied Soil Ecology**

I. INTRODUCTION

Soils are complex ecosystems because many components interact inside them and allow for multi-ecosystem functions (Kibblewhite *et al.*, 2008; Briones, 2014). Nevertheless, over the last decades growing evidence has emerged about the negative impact of anthropogenic disturbances on the ability of soils to provide functions (Levin *et al.*, 2017) and occasionally to host biodiversity (Orgiazzi *et al.*, 2016). In this context, the closing down of steel, shipbuilding or metal manufacturing industries because of economic issues and the closing down of mining sites in different European countries have resulted in land abandonment and altered ecosystem functioning (Wong and Bradshaw, 2002). Sometimes called greenfields, wastelands, uncultivated/vacant/abandoned lands, the soils of these derelict lands can be disturbed, *i.e.* characterized by a low fertility level (Dickinson, 2003) and/or sometimes by contamination (Morel *et al.*, 2005). These specific abiotic parameters can alter soil functions likely to be important for agriculture and lead to surfaces being unmanaged and underused (Cundy *et al.*, 2016). In Vincent *et al.* (2018), we showed that derelict soils could have low organic matter and nitrogen contents, a low cation exchange capacity, alkaline conditions with cations occasionally lacking or in excess, and moderate organic and inorganic contamination linked to their history. Biotic parameters (*i.e.* plant, fauna and microorganism density and richness) co-varied more with soil fertility proxies than with soil contamination parameters in moderately contaminated derelict soils. Once soils are underused and abandoned by humans, they may turn into refuges for

biodiversity provided that abiotic parameters are not extreme for life (Baranova *et al.*, 2014). Derelict soils have been reported to harbor a rich invertebrate biodiversity: insects (Bonthoux *et al.*, 2014), beetles (Eyre *et al.*, 2003), carabids (Small *et al.*, 2006), earthworms and Collembola (Butt and Briones, 2017). But the biological functioning of derelict soils remains poorly understood as compared to forest or agricultural lands.

In this vein, trait-based approaches focusing on the characteristics of individuals provide an interesting tool to understand soil functioning (Verberk *et al.*, 2013). Pey *et al.* (2014) defined traits in soil invertebrate studies as “morphological, physiological, phenological or behavioral features measurable at the individual level, from the cell to the whole-organism level, without reference to the environment or any other level of organization”. Traits could be considered as functional because they impact organism fitness directly and indirectly (Violle *et al.*, 2007). Finally, functional traits can help to understand the effect of environmental stressors on soil communities (Auclerc *et al.*, 2009; Vandewalle *et al.*, 2010; Hedde *et al.*, 2012; Salmon and Ponge, 2012). In recent years, traits have been recognized as effective predictors of exposure to disturbances (metal contamination in Hedde *et al.*, 2012; restoration practices in Rosenfield and Müller, 2017), or of management strategies such as intensive agriculture, polyculture and monoculture (Wood *et al.*, 2015; Sechi *et al.*, 2017) to better understand the soil functional community structure.

The functional community structure of the soil fauna is linked to soil abiotic parameters. For example, in urban soils, the proportion of Collembola with a sexual reproduction type was positively correlated with total Cu and Ni concentrations, and the proportion of pigmented Collembola was positively correlated with total Cr, Pb and Zn concentrations (Santorufio *et al.*, 2015). The proportion of Collembola living belowground (with the following trait attributes: small size, reduced or absent sensorial organs and furca, non-sexual reproduction type) in coal mine spoil tip soils was found associated to a coarser soil texture and higher nitrogen and organic matter concentrations (Vanhee *et al.*, 2017). In parallel, the proportion of macroinvertebrates with a soft body decreased when metal contamination increased (Hedde *et al.* (2012), and the body size of ants was found driven by soil granulometry (Costa-Milanez *et al.* (2017). Moreover, other authors showed that soil age played a key role in the functional community structure by selecting certain traits such as moisture or light requirement in carabid communities (Aubin *et al.*, 2013) or the feeding group for macrofauna communities (Frouz *et al.*, 2013). To our knowledge, existing studies dealing with trait-based approaches in anthropogenic sites focussed on only one group of soil invertebrates (Collembola or carabids or macrofauna) and were carried out on highly contaminated and/or low fertile soils. Furthermore, the links between abiotic parameters and trait-based community structure remain understudied.

The present work aims to characterize which environmental factors shape macrofauna and Collembola invertebrate communities and their functional structure in derelict soils characterized by moderate contamination and/or low fertility. We hypothesized that the soil characteristics related to past industrial activities and/or to the materials used for construction drove the structure of invertebrate communities by selecting certain traits and ecological preferences. We studied 6 different derelict soils: two soils from coking plants, one soil from a settling pond, two constructed soils, and an inert waste storage soil (Vincent *et al.*, 2018). We took into account sixteen traits and ecological preferences to characterize the functional structure of the soil invertebrate communities.

II. MATERIALS AND METHODS

II.1. Derelict soils and fauna sampling methods

We studied six soils (named A to F) from open industrial derelict sites located in north-eastern France, in a historically industrial region, with many former coking plant sites and steel factories. The climate in this region is continental, with mean annual temperatures ranging between 1.4 and 18.5°C, and annual rainfall around 750 mm. The soils were collected in April 2015.

Soil A was a Spolic Garbic Technosol (IUSS Working Group WRB, 2014). It was an experimental constructed soil (1.13 ha) set up on the site of a former coking plant in 2007 (G Séré *et al.*, 2008). It was composed of paper mill waste, thermal desorption-treated polycyclic aromatic hydrocarbon- (PAH-) contaminated soil, and green-waste compost. Soil B was a Skeletic Technosol. It was a non-hazardous waste landfill (0.7 ha) built in 2011; it was made of ground construction and demolition wastes. Soils C and E were Spolic Technosols from former coking plant sites closed in 1980 and 1975, respectively. These two soils differed in metal trace element concentrations. Soil D was a Spolic Technosol from a settling pond site filled with steel sludge until 1981. Lastly, soil F, a Spolic Technosol, was an experimental 0.09-ha constructed soil set up in 2013. This soil was composed of biopile-treated PAH-contaminated soil mixed with heavy metal-contaminated sludge.

We measured eleven abiotic variables that describe soil fertility: OM content, water holding capacity (WHC), clay content, exchangeable Ca, K, Mg and Na cation concentrations, Olsen phosphorus content, pH, CEC, C:N ratio. We also measured four chemical variables to quantify the contaminant levels in the soils, *i.e.* PAH and available Cd, Zn and Pb concentrations. We also took

into account the time span since the last anthropogenic action on each site. The abiotic characteristics are summarized in Table 4.1 (for more details see Vincent *et al.* 2018)).

Table 4.1: Abiotic parameters of the six derelict soils. Means $\pm$ SD ($n=5$, except for soil F where $n=4$). Localization in the Lambert 93 projection in m; age is the time lapse from the last anthropogenic action (years); clay and WHC in %, CEC in $\text{cmol}^+.\text{kg}^{-1}$ dry soil; Olsen Phosphorous in mg.kg^{-1} dry soil; OM in %; exchangeable Ca, K, Mg, Na in mg.kg^{-1} dry soil, available and total Cd, Pb, Zn in mg.kg^{-1} dry soil, and PAH concentrations in mg.kg^{-1} dry soil. For more details, see Vincent *et al.* (2018).

	A	B	C	D	E	F
Site type and name	Experimental constructed soil (Biotechnosol)	Non-hazardous waste landfill (Retonfey)	Coking plant site (Homécourt)	Settling pond site (Moyeuvre-Petite)	Coking plant site (Micheville)	Experimental constructed and contaminated soil (Jeandelaincourt)
Localization	E:918202 N:6905686	E:942352 N:6897630	E:918487 N:6905891	E:920222 N:6911528	E:942262 N:6897475	E:938477 N:6864617
Age	8	4	35	34	40	2
Texture	Silt loam	Silty clay loam	Loamy sand	Sandy loamy	Loam	Silt loam
Clay	11	40	6	4	27	15
WHC	95 $\pm$ 7	59 $\pm$ 8	63 $\pm$ 5	58 $\pm$ 4	70 $\pm$ 1	64 $\pm$ 1
CEC	22.0 $\pm$ 2.9	17.2 $\pm$ 3.3	17.2 $\pm$ 1.8	11.3 $\pm$ 0.7	15.5 $\pm$ 1.4	10.1 $\pm$ 0.4
pH	7.9 $\pm$ 0.2	7.9 $\pm$ 0.1	7.9 $\pm$ 0.1	8.4 $\pm$ 0.2	7.2 $\pm$ 0.2	8.3 $\pm$ 0.4
Olsen Phosphorous	62 $\pm$ 5	25 $\pm$ 17	39 $\pm$ 16	44 $\pm$ 10	36 $\pm$ 2	44 $\pm$ 10
C:N	30 $\pm$ 6	28 $\pm$ 6	26 $\pm$ 5	65 $\pm$ 20	20 $\pm$ 3	37 $\pm$ 16
OM	39.7 $\pm$ 5.9	3.2 $\pm$ 1.4	16.7 $\pm$ 6.3	13.3 $\pm$ 2.8	4.8 $\pm$ 3.0	2.8 $\pm$ 0.8
Ca _{exchangeable}	292 $\pm$ 44	713 $\pm$ 144	903 $\pm$ 405	2031 $\pm$ 240	786 $\pm$ 84	1123 $\pm$ 130
K _{exchangeable}	706 $\pm$ 105	491 $\pm$ 24	155 $\pm$ 36	377 $\pm$ 30	131 $\pm$ 50	218 $\pm$ 36
Mg _{exchangeable}	84 $\pm$ 14	152 $\pm$ 38	103 $\pm$ 6	312 $\pm$ 47	47 $\pm$ 15	72 $\pm$ 34
Na _{exchangeable}	37 $\pm$ 19	34 $\pm$ 28	11 $\pm$ 3	42 $\pm$ 11	14 $\pm$ 14	55 $\pm$ 29
Cd _{available}	0.22 $\pm$ 0.05	0.03 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.05	0.15 $\pm$ 0.01	0.10 $\pm$ 0.03	9.07 $\pm$ 1.5
Pb _{available}	13 $\pm$ 3	14 $\pm$ 10	46 $\pm$ 14	18 $\pm$ 5	14 $\pm$ 6	110 $\pm$ 60
Zn _{available}	29 $\pm$ 9	8 $\pm$ 6	45 $\pm$ 20	25 $\pm$ 6	7 $\pm$ 2	308 $\pm$ 189
Cd _{total}	1.1 $\pm$ 0.5	0.1 $\pm$ 0.2	0.1 $\pm$ 0.7	1.4 $\pm$ 0.1	0.1 $\pm$ 0.1	23.6 $\pm$ 6.9
Pb _{total}	150 $\pm$ 53	41 $\pm$ 26	346 $\pm$ 106	339 $\pm$ 50	37 $\pm$ 10	460 $\pm$ 73
Zn _{total}	345 $\pm$ 37	131 $\pm$ 2	1162 $\pm$ 396	1196 $\pm$ 122	116 $\pm$ 23	1813 $\pm$ 302
Σ 16 PAH (US-EPA)	170 $\pm$ 49	12 $\pm$ 12	179 $\pm$ 136	97 $\pm$ 54	142 $\pm$ 90	10 $\pm$ 4

We took five soil samples from each derelict site (except for soil F where four samples were taken), along a 20-m transect with 5 m distance between each sample, in accordance with the Tropical Soil Biology and Fertility (TSBF) method (Anderson and Ingram 1993). Collembola communities were sampled using soil cores and MacFadyen method, and macrofauna communities were sampled by soil blocks and hand-sorting method. Collembola were sampled on the 6 plots, on 10 cm depth, using two 5-cm deep corers (according to the ISO 23611-2 standard), fitted one above the other. The micro-arthropods were extracted using a high-temperature gradient extractor (MacFadyen, 1961) and identified to the species level. The soil macrofauna communities were studied on 5 sites (A to E) by excavating 0.25 $\times$ 0.25 $\times$ 0.30 m soil blocks, according to the ISO 23611-

5 standard. Soil F was not studied for macrofauna communities because the destructive method would have caused high disturbances on the experimental plots. Macrofauna organisms were hand-sorted in laboratory, and kept in a 70% (v/v) ethanol solution. They were all identified down to the family level, and further down to the species level for rove beetles, ground beetles and earthworms. Ants were removed from all analyses because these social insects are highly aggregated in space (Nahmani and Rossi 2003).

II.2. Functional study (trait-based approach) of Collembola and macrofauna communities

We selected 7 traits for the trait-based approach of the Collembola study: body length (BLN), body shape (BSH), number of ocelli (OCE), presence of a post antennal organ (PAO), pigmentation (PIG), motion strategy (MS), reproduction type (REP), and 3 ecological preferences: vertical distribution (DIST), micro-habitat preference (MHABI), and habitat preference (HABI). As for the macrofauna, we selected 3 traits: body length (BLN), presence of an integument (INT), and mouth part type (MthT), and 3 ecological preferences: diet type (DIET), micro-habitat preference (MHABI), and habitat preference (HABI). These traits were chosen because they are commonly used to characterize the dispersal abilities of organisms in a given ecosystem, or to describe habitats and environmental stressors (Makkonen *et al.*, 2011).

We gathered values (*e.g.* attributes) of the traits and ecological preferences of species from various sources (aggregated data, books, literature, *etc.*) but mainly from the BETSI (Biological and Ecological Traits of Soil Invertebrates - <http://betsi.cesab.org>) database. We used 8,200 Collembola data and 1,400 macrofauna data. The different traits/ecological preferences and attributes we assessed are listed in Table 4.2.

Table 4.2: Traits/Ecological preferences of the Collembola and macrofauna sampled in the 6 derelict soils.
Codes are used in Figures 4.1 to 4.4.

	Trait/Ecological preference	Code of Trait/Ecological preference	Attribute	Code of attribute
Collembola	Body length	BLN	<1 mm	_ _{<1}
			[1:2] mm	_ _{1_2}
			[2:3] mm	_ _{2_3}
			>3 mm	_ _{>3}
	Body shape	BSH	Spherical	_ _{sph}
			Cylindrical	_ _{cyl}
	Ocelli (visual organ)	OCE	No ocellus	_ ₀
			1 or 2 pair of ocelli	_ _{1_2}
			3 or 4 pair of ocelli	_ _{3_4}
			5, 6, 7 or 8 pair of ocelli	_ _{5_8}
	Post Antennal Organ*	PAO	PAO present	_ _{present}
			PAO absent	_ _{absent}
	Pigmentation	PIG	Pigmented	_ _{present}
			Non-pigmented	_ _{absent}

Macrofauna	Motion strategy	MS	Furca present Furca absent	_furca _no.furca
	Reproduction	REP	Sexual reproduction type Asexual reproduction type	_sex _asex
	Vertical distribution	DIST	Epigenic	_epi
			Hemiedaphic	_hemi
			Euedaphic	_eu
	Micro-habitat preference	MHABI	Inhabiting in decaying micro-habitat	_dec
			Inhabiting in mineral micro-habitat	_min
			Inhabiting in root micro-habitat	_root
			Inhabiting in soil micro-habitat	_soil
			Inhabiting in vegetal micro-habitat	_veg
	Habitat preference	HABI	Inhabiting in wet micro-habitat	_wet
			Inhabiting in forest and grassland	_forest_grassland
			Inhabiting in agricultural area	_agri
			Inhabiting in artificial area	_arti
	Body length	BLN	Inhabiting in wetland	_wet
			<2.5 mm	_<2.5
			[2.5:5] mm	_2.5_5
			[5:10] mm	_5_10
			[10:20] mm	_10_20
	Integument	INT	>20 mm	_>20
			Sclerotized	_scl
	Mouth-part type	MthT	Non-sclerotized	_no.scl
			Absent	_absent
			Piercing-sucking	_piercing.sucking
			Swallowing	_swallowing
	Diet	DIET	Sucking	_sucking
			Chewing	_chewing
			Zoophagous	_zoo
			Phytophagous	_phyto
	Micro-habitat preference	MHABI	Geophagous	_geo
			Detritivore	_detri
			Inhabiting in decaying micro-habitat	_dec
	Habitat preference	HABI	Inhabiting in mineral micro-habitat	_min
			Inhabiting in vegetal micro-habitat	_veg
			Inhabiting in forest and grassland	_forest_grassland
			Inhabiting in agricultural habitat	_agri
			Inhabiting in artificial habitat	_arti
			Inhabiting in wetland	_wet

* The Post Antennal Organ (PAO) is an organ composed of thermo-, hygro-, or chemo-sensitive receptors.

To analyze attribute data for a given taxon, we performed a fuzzy coding analysis. This method was developed by Chevene *et al.* (1994) and is widely used for trait approaches. Calculations were performed according to the method of Hedde *et al.* (2012). The information obtained from each source was coded by an affinity score for a given taxon and for a given trait attribute ranging from 0 to 4 (from no (0) to very high affinity (4) of the taxon to a trait attribute, respectively). Subsequently, the affinity scores obtained from all the sources were added up and transformed into a percentage to build the trait profile of each species/taxon. Finally, for each trait attribute, the mean affinity for the entire Collembola or macrofauna community, called Community Weighted Mean (CWM), was calculated according to Garnier *et al.* (2004). The CWM calculation was performed using equation 1,

$$(Eq. 1) \quad CWM = \sum_{i=1}^n P_i \times T_i,$$

where P_i is the relative abundance of species/taxon i , n is the number of Collembola or macrofauna taxa, and T_i is the relative trait/ecological preference attribute affinity of species/taxon i .

CWMs were calculated separately for Collembola and macrofauna communities, for each trait attribute in each sample, using the vegan package (Oksanen *et al.*, 2017) in R software (version 3.1.3, R Development Core Team, 2015).

II.3. Taxonomic and functional diversity indices of Collembola and macrofauna communities

We measured different ecological indices that describe taxonomic or functional community structure because they are commonly used to assess ecosystem stability and functioning (Tilman, 2001; Tilman *et al.*, 2014; Bukvareva, 2017). For a taxonomic description of the communities sampled in each derelict soil, we estimated taxonomic richness (TRic) and taxonomic evenness (TEve) using the vegan package (Oksanen *et al.*, 2017) in R software. TRic was the number of taxa composing the Collembola or macrofauna communities sampled in each derelict soil, and TEve was the partitioning of individuals among the different taxa across each community.

For a functional description of Collembola and macrofauna communities, we calculated functional richness (FRic) and functional evenness (FEve) according to (Villéger *et al.*, 2008), using trait values (Laliberté *et al.*, 2014). FRic was the volume created by attribute values in a multidimensional trait space. FEve was the evenness with which attributes were distributed in the multidimensional functional space. These functional indices were calculated using R software and the FD package (Laliberté *et al.*, 2014).

II.4. Statistical and multivariate analyses

To test the differences in functional community structures among soils, we independently performed univariate tests on CWMs for each attribute of a given trait. We also performed univariate tests on TRic, TEve, FRic and FEve to compare taxonomic and functional diversity levels among soils. As no dataset followed the conditions of parametric tests (we checked normality with Shapiro Wilk's test and homogeneity of variances with Bartlett's test), we performed Kruskal-Wallis tests followed by multiple comparisons of rank distribution using the `kruskalmc` function in `pgirmess` package (Giraudoux, 2017). We used R Software for data processing, and performed all univariate tests with a 95% significance level.

To highlight the relationships between the trait/ecological preferences and abiotic parameters of the derelict soils, we performed RLQ analyses (Dolédec *et al.*, 1996). RLQ analysis is a

generalization of co-inertia analysis (Dray *et al.*, 2003). We used it to provide simultaneous ordination, and to analyze the joint structure of three datasets: the abiotic parameter dataset of each sample (table R), the relative abundance of taxa in each sample (table L), and the attribute trait values for each taxon (table Q). We tested the significance of the relationship between taxon traits and abiotic parameters using a Monte Carlo test (999 permutations). We performed RLQ analysis for Collembola and macrofauna communities separately, using the ade4 package (Dray and Dufour, 2007) in R software. This approach is one of the most integrated methods to analyze trait-environment relationships (Dray and Dufour, 2007; Kleyer *et al.*, 2012). We tested linear regressions with the lmtest package in R, and correlations between abiotic and biotic parameters with the Pearson correlation coefficient (Hothorn *et al.*, 2015).

III. RESULTS

III.1. Collembola communities from all 6 derelict soils

The density of Collembola ranged between 17,000 and 91,000 individuals *per m*² on average, and their taxonomic richness between 3.4 and 7 (Table 4.3). Details of Collembola community are presented in appendix 8 of the manuscript. As regards the taxonomic approach, Collembola species richness was the highest in soils D, E and F, and significantly different from soil A (Table 4.3). The evenness of Collembola species did not significantly differ among soils, with mean values ranging from 0.46 to 0.74. As for the trait-based approach, Collembola functional richness (between 0.02 and 0.16) was the highest in soils C, D and E, and significantly different from soils B and F. No difference in the functional evenness of Collembola communities was found among soils, with mean values ranging between 0.62 and 0.71.

Table 4.3 : Taxonomic and functional indices of Collembola communities in the six derelict soils. *Means ± SD (n=5, except for soil F where n=4). Different letters indicate significant differences among the 6 soils (P<0.05; Kruskal-Wallis test followed by multiple comparisons of rank distribution with Fisher's LSD test). TRic=Taxonomic richness; TEve=Taxonomic evenness; FRic=Functional richness; FEve=Functional evenness.*

Indices of Collembola communities		Soils					
		A	B	C	D	E	F
Taxonomic	TRic	3.4±1.3 b	4.2±0.8 ab	6±1.4 ab	7±0.8 a	7±2.2 a	5.8±1 a
	TEve	0.67±0.23	0.63±0.18	0.46±0.12	0.52±0.1	0.52±0.12	0.74±0.12
Functional	FRic	0.07±0.04 ab	0.04±0.03 b	0.13±0.04 a	0.14±0.03 a	0.16±0.04 a	0.02±0.01 b
	FEve	0.62±0.10	0.56±0.22	0.68±0.15	0.65±0.08	0.71±0.04	0.68±0.15

Figure 4.1 shows the CWM of each attribute measured for each of the ten traits/ecological preferences of the Collembola communities sampled in each of the six derelict soils. The proportion of small Collembola (<1 mm) was significantly higher in soil E (former cocking plant soil) than in soils A (compost-amended constructed soil) and F (heavy-metal-contaminated constructed soil). The CWM of intermediate body length organisms (1-2 mm) was statistically lower in soil F than in the other 5 soils. Soil F harbored bigger-sized Collembola, with a proportion of 2-3 mm long Collembola significantly higher than in soils B, D and E. The proportion of Collembola with a cylindrical body shape was significantly higher in soils A, C, D and F than in soil E.

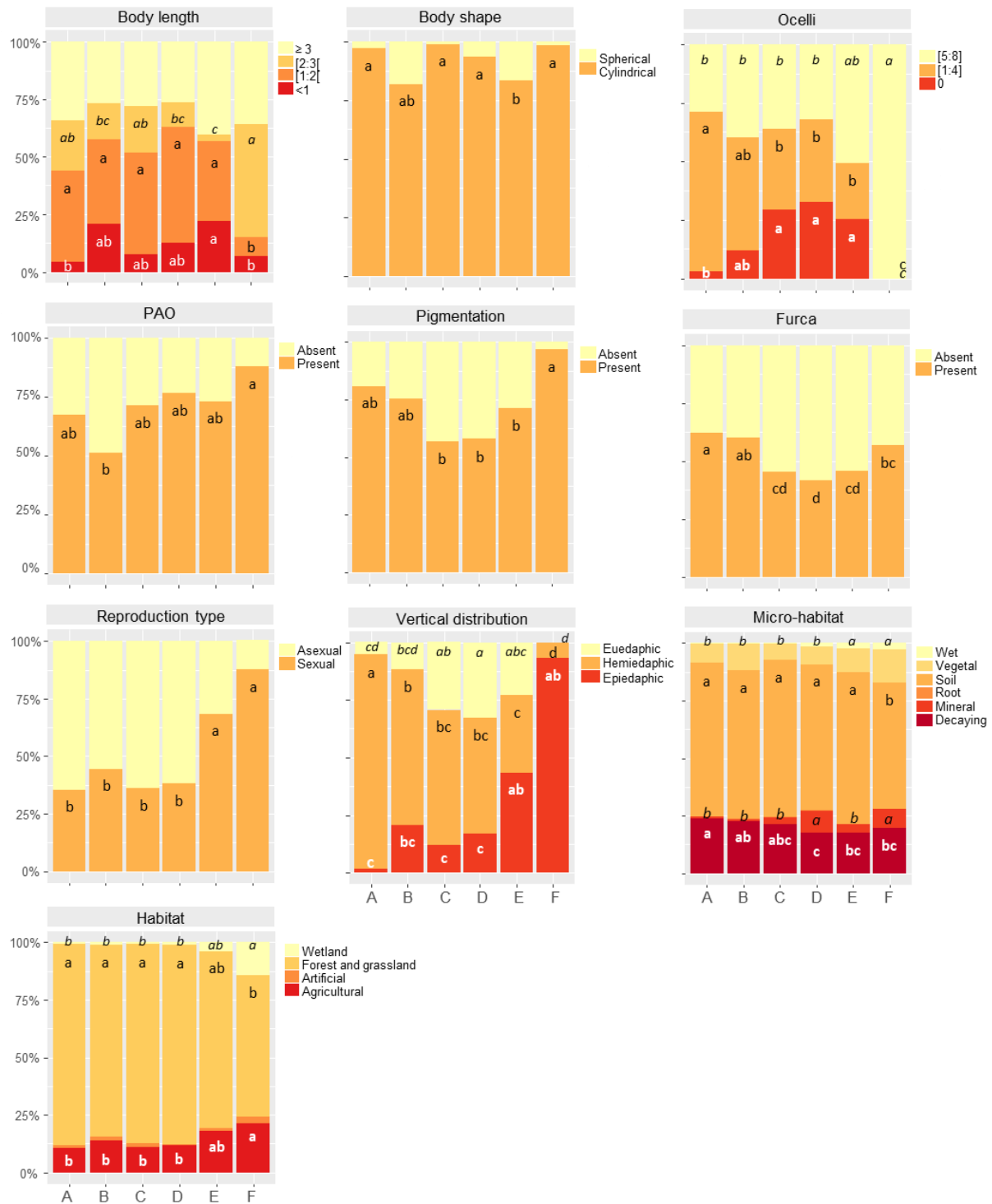


Figure 4.1 : Community Weighted Mean (CWM) values of Collembola communities sampled in each derelict soil (A to F), calculated for the following traits: number of ocelli, body length, vertical distribution, presence of furca, body shape, presence of PAO, pigmentation, reproduction type, habitat preference, and micro-habitat preference. Means ($n=5$, except for soil F where $n=4$). Different letters indicate significant differences among the 6 soils ($P < 0.05$) using Kruskal-Wallis test followed by multiple comparisons of rank distribution with Fisher's LSD test.

The proportion of Collembola with a high number of ocelli (5, 6, 7 or 8 pairs) represented 100% of the community in soil F, and was significantly higher than in soils A, B, C and D. The proportion of blind Collembola in soils C, D and E was higher than in soils A and F. The proportion of

Collembola with a PAO was significantly higher in soil F than in soil B (non-hazardous waste landfill). The proportion of pigmented individuals was significantly higher in soil F than in soils C, D and E. The proportion of Collembola with a furca was significantly higher in soils A and B than in soils C, D, and E.

The proportion of Collembola with a sexual reproduction type was significantly higher in soils E and F than in the other soils. The proportion of Collembola that inhabited the different soil layers varied according to soils. The proportion of epiedaphic Collembola was significantly higher in soil F than in soils A, C and D. The proportion of hemiedaphic organisms in soils decreased in the following order: A, B, C, D, E, F, and differences were significant among soils A, B, E and F. The euedaphic proportion of Collembola was significantly higher in soil D than in soils A, B and F. No euedaphic Collembola was found in soil F.

Sixty-four percent of the Collembola sampled in the six soils preferred soil as a micro-habitat. Soil F harbored a significantly lower proportion of soil-dwelling Collembola than the other soils. Soil A harbored a higher proportion of Collembola inhabiting decaying woods than soils D, E and F. The proportion of Collembola inhabiting mineral micro-habitats was significantly higher in soils D and F than in the other soils, while the proportion of Collembola preferring wet micro-habitats was low in all soils, yet significantly higher in soils E and F than in the other soils. As for habitat preference, the Collembola collected in the derelict soils mainly belonged to forest and grassland taxa (81% of the community on average for the 6 soils). The proportion of Collembola inhabiting forests and grasslands was significantly lower in soil F than in soils A, B, C and D, while it was the opposite for the proportions of Collembola inhabiting agricultural and wetland habitats.

Figure 4.2 illustrates the RLQ analysis with (1) the projection of coordinates obtained for each soil replicate on the first two main components RLQ1 and RLQ2 (Fig. 4.2.A), (2) the mapping of Collembola species density coordinates (Fig. 4.2.B), and (3) the plot of the attributes of each trait linked to abiotic soil parameters (Fig. 4.2.C). The first two RLQ analysis axes accounted for 88% of total Collembola community variance (69 and 19%, respectively). The Monte-Carlo permutation test evidenced a global link between physico-chemical soil variables and the traits/ecological preferences of Collembola ($P=0.052$).

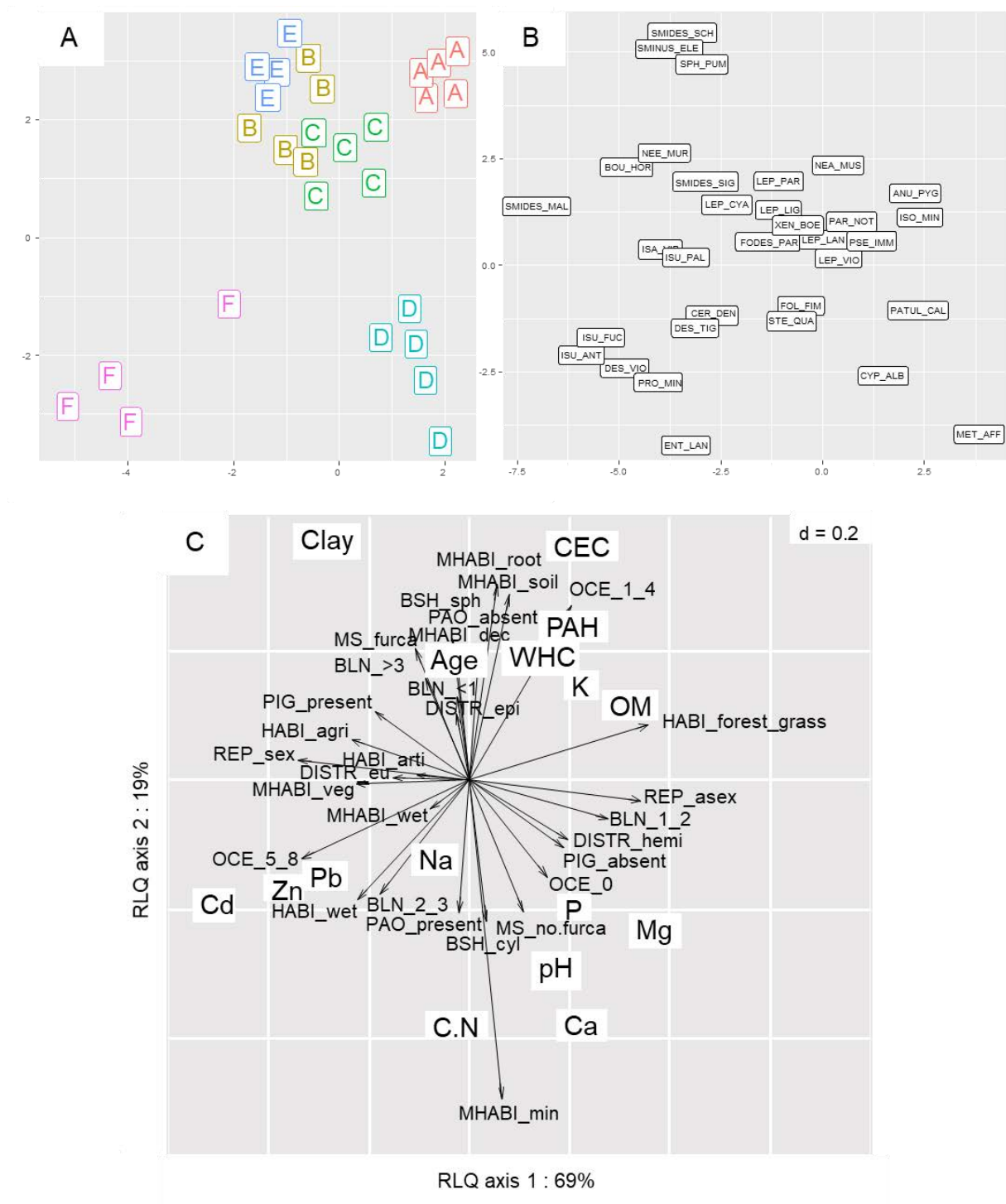


Figure 4.2 : Projection of the coordinates of each soil replicate on the first two main components RLQ1 and RLQ2 (A), mapping of Collembola species density coordinates (B), and plot of attributes of each trait linked to abiotic soil parameters (C). *PAH*=sum of the 16 PAH concentrations; *Clay*=proportion of clay; *P*=available phosphorous (Olsen method); *OM*=Organic Matter; *WHC*=Water Holding Capacity; *CEC*=Cation Exchange Capacity; *C:N*=carbon/nitrogen ratio; [Exchangeable cations by cobaltihexamine extraction] *Ca*=calcium; *Na*=sodium; *K*=potassium; *Mg*=magnesium. [Available elements] *Pb*=lead; *Zn*=zinc; *Cd*=cadmium; *Age*= time since the last anthropogenic action. See Table 4.2 for the codes of traits/ecological preferences and see Supplementary materials, Appendix 4.A in supplementary data, for Collembola species codes.

The projection of the centroid calculated for each soil separated them into 4 groups: F; B-C-E; A; D. Species composition is given in Figure 4.2. *Isotomurus fucicola*, *Isotomurus antennalis*, *Desoria violacea*, *Proisotoma minuta* and *Entomobrya lanuginosa* were in the highest density in soil F as compared to the other soils. *I.fucicola*, *I.antennalis* and *P.minuta* were only sampled in this soil. Likewise, soil E hosted *Smithurinus schoetti*, *Sphaeridia pumilis* and *Sminthurinus elegans* in a higher abundance than the other soils. *S.schoetti* was only sampled in soil E. *Metaphorura affinis*, *Cyphoderus albinus* and *Paratullbergia callipygos* had the highest density in soil D. The other soils (A, B, C, and F) did not host exclusive Collembola species (*i.e.* sampled in only one of the six soils).

Figure 4.2.C shows that the highest proportion of Collembola inhabiting mineral micro-habitats was associated with the highest C:N ratio, pH and Ca concentration and a small quantity of clay, which were the abiotic characteristics of soil D (settling pond site). The higher proportions of forest- and grassland-inhabiting Collembola were associated with high OM contents and low trace elements (Cd, Zn, Pb) concentrations in soils. These trait-abiotic parameter relationships were characteristic of soil A, and to a lesser extent of soils B, C and E. Soil F had the highest Cd, Zn and Pb concentrations and the lowest OM content. It hosted the highest proportion of Collembola with a high number of pairs of ocelli (*i.e.* 5, 6, 7 or 8), and the highest proportion of Collembola inhabiting wetland habitats. The highest proportion of Collembola inhabiting in root and soil micro-habitats was associated with the highest soil CEC values in soil A and to a lesser extent in soils B, C and E. Finally, the highest proportion of Collembola with a low number of ocelli (*i.e.* 1, 2, 3 or 4) was associated with the highest soil CEC and PAH concentrations, such as measured in soil A. The other traits/ecological preferences were not clearly linked to measured physico-chemical parameters. Moreover, the time span since the last anthropogenic action on each site (*i.e.* “age”) did not seem to influence trait selection across the sites.

III.2. Macrofauna communities in 5 derelict soils

The average macrofauna density ranged between 118 and 668 individuals *per m*², and the average taxonomic richness of the macrofauna community ranged between 3.0 and 11.6 (Table 4.4). Details of macrofauna community are presented in appendix 8 of the manuscript. Taxon richness (between 6.0 and 16.2) was significantly higher in soils A and B than in soils D and E. No significant difference in the evenness of macrofauna taxa was measured among soils, with mean values ranging from 0.53 to 0.71. Functional richness (between 0.06 and 0.14) was significantly higher in soil A than in soils C, D and E. As for Collembola community results, no difference in functional evenness was measured among soils, with mean values ranging from 0.74 to 0.78.

Table 4.4 : Taxonomic and functional indices of macrofauna communities in 5 derelict soils. *Means $\pm$ SD (n=5). Different letters indicate significant differences among the 5 soils ($P < 0.05$; Kruskal-Wallis test followed by multiple comparisons of rank distribution with Fisher's LSD test). TRic=Taxonomic richness; TEve=Taxonomic evenness; FRic=Functional richness; FEve=Functional evenness.*

Indices of macrofauna community		Soils				
		A	B	C	D	E
Taxonomic	TRic	16.2 $\pm$ 4.4 a	13.8 $\pm$ 4.9 a	8.7 $\pm$ 3.1 ab	6.6 $\pm$ 3.2 b	6.0 $\pm$ 3.8 b
	TEve	0.53 $\pm$ 0.06	0.62 $\pm$ 0.11	0.65 $\pm$ 0.27	0.71 $\pm$ 0.14	0.71 $\pm$ 0.23
Functional	FRic	0.14 $\pm$ 0.01 a	0.10 $\pm$ 0.05 ab	0.06 $\pm$ 0.05 b	0.07 $\pm$ 0.05 b	0.07 $\pm$ 0.05 b
	FEve	0.76 $\pm$ 0.03	0.76 $\pm$ 0.07	0.78 $\pm$ 0.12	0.77 $\pm$ 0.10	0.74 $\pm$ 0.14

Figure 4.3 shows the CWM of the six traits/ecological preferences of the macrofauna communities sampled in the five soils. The distribution of macro invertebrates according to their body length differed among soils: the proportion of small invertebrates (2.5-5 and 5-10 mm) was significantly higher in soil D than in the other soils. The proportion of bigger invertebrates (>20 mm) was significantly higher in soil E than in soils C and D, which hosted the smallest proportion of big animals. No significant difference in integument sclerotization of macroinvertebrate bodies was observed among soils.

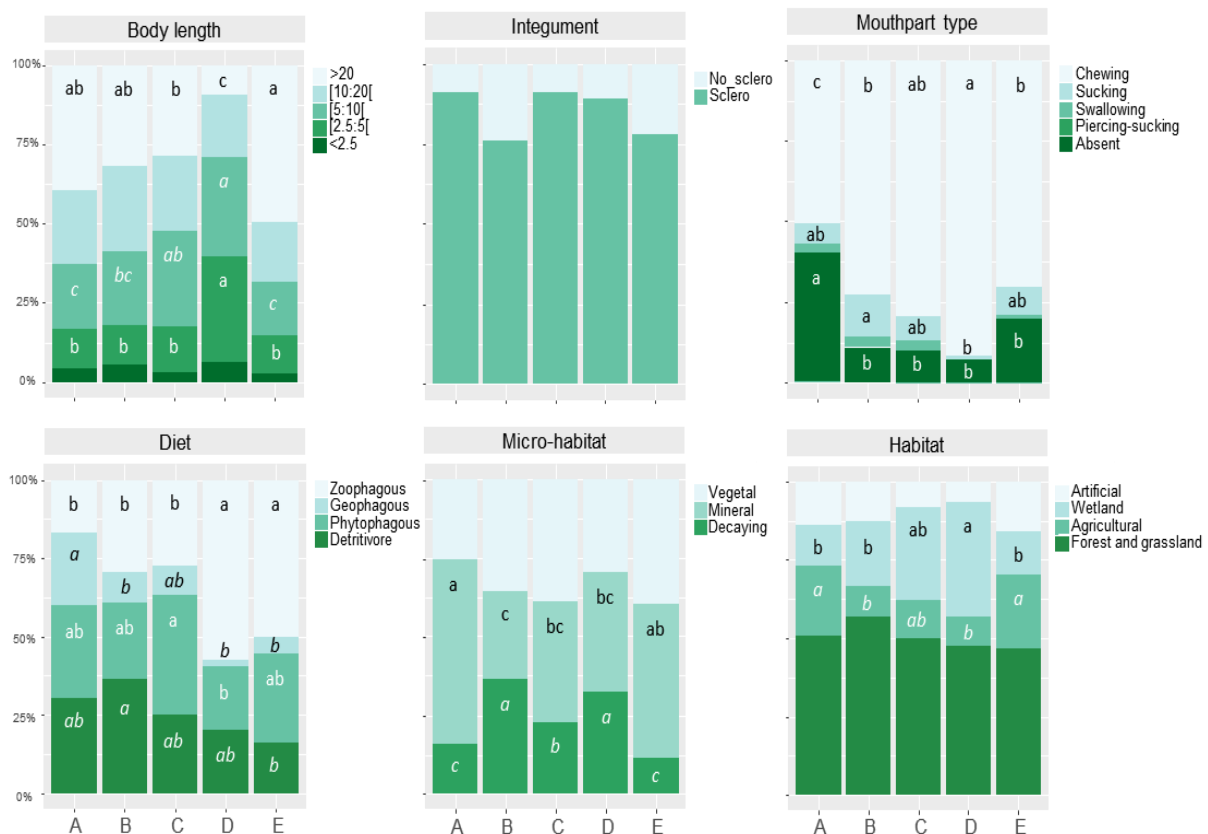


Figure 4.3 : Community weighted mean (CWM) values of macrofauna communities sampled in each derelict soil (A to E), calculated for the following traits: body length, diet type, integument type, mouthpart type, habitat preference, and micro-habitat preference. *Means (n=5, except for soil F where n=4). Different letters indicate significant differences among the 5 soils ($P < 0.05$) using Kruskal-Wallis test followed by multiple comparisons of rank distribution with Fisher's LSD test.*

The distribution of macro invertebrates according to their mouthpart type differed among soils. The proportion of invertebrates without a specific mouthpart (mainly earthworms) was significantly higher in soil A than in the other soils. The proportion of animals with a sucking mouthpart type was significantly higher in soil B than in soil D. The proportion of individuals with a chewing mouthpart type, which represented *ca.* 70% of the community in each of the 5 soils, was significantly higher in soil D than in soils A, B and E. The distribution of macro invertebrates according to diet strategies differed among soils. The proportion of detritivores was significantly higher in soil B than in soil E. The proportion of phytophagous trophic groups was higher in soil C than in soil D. The geophagous trophic group was in a significantly higher proportion in soil A than in soils B, D and E. Finally, the proportion of zoophagous trophic groups was significantly lower in soils A, B and C than in soils D and E.

Soils B and D hosted a higher proportion of macrofauna inhabiting decaying micro-habitats than the other 3 soils. The proportion of invertebrates inhabiting a mineral micro-habitat was significantly higher in soil A than in soils B, C and D. As regards habitat preference, the forest and grassland habitat category was dominant for the invertebrates from all 5 soils (around 50% of the community in the 5 soils, without any significant difference among sites). The proportion of individuals with a preference for the “agricultural area” trait attribute was higher in soils A and E than in soils B and D. The proportion of taxa preferring the “wetland habitat” trait attribute was significantly higher in soil D than in soils A, B and E.

Figure 4.4 illustrates the RLQ analysis with (1) the projection of coordinates obtained for each soil replicate on the first two RLQ1 and RLQ2 main component axes (Fig. 4.4.A), (2) the mapping of macrofauna taxon density coordinates (Fig. 4.4.B), and (3) the plot of each trait attribute linked to physico-chemical soil parameters (Fig. 4.4.C). The first two RLQ analysis axes accounted for 87% of total macrofauna community variance (71 and 16%, respectively). The Monte-Carlo permutation test indicated a highly significant ($P=0.01$) link between physico-chemical variables and traits/ecological preferences of soil macro-invertebrates.

The projection of the centroid calculated for each soil delineated 3 groups: A; B-E; C-D. Taxon composition is presented in Figure 4.4.B. *Athous* click-beetle, Dermaptera, *Allolobophora chlorotica*, *Allolobophora oculata* and *Aporrectodea longa* earthworms had a higher density in soil A than in the other soils. The Miridae group were in a higher density in soils B and E than in the other soils. Limacidae, the spider family Linyphiidae, the centipede family Geophilidae and the millipede order Julida– especially *Ommatoiulus sabulosus*– had a higher density in soil E than in the other soils. Finally, Steninae and Staphylinidae were in a higher density in soil D than in the other soils.

The highest proportions of macrofauna without a mouthpart, geophagous invertebrates and animals with a preference for agricultural habitats were associated with higher soil CEC and WHC, which were characteristic of soil A. The highest proportion of invertebrates inhabiting mineral micro-habitats was associated with the highest soil PAH, phosphorous, and available Cd concentrations and the highest OM content. The highest proportion of invertebrates with a wetland habitat preference was associated with the highest soil Mg, Ca and Pb concentrations, the highest C:N ratio and the lowest soil K concentration, characteristic of soils C and D. The highest proportion of individuals with a sclerotized integument was associated with the highest available soil Zn concentrations and lowest clay contents. The time span since the last anthropogenic action on each site (*i.e.* “age”) did not seem to have any impact on functional community structure.

IV. DISCUSSION

IV.1. Soil (taxonomic and functional) community structure is driven by derelict soil fertility and contamination.

The study of the links between the taxonomic and functional soil community structures of Collembola and macrofauna on the one hand and the physico-chemical characteristics of 6 derelict soils showed relationships between abiotic and biotic parameters. The differences in fertility levels and contaminant concentrations among the 6 anthropogenic derelict soils appeared to be associated with different structures of Collembola and macrofauna communities at the taxonomic and functional levels.

Firstly, the fertility parameters measured in the derelict soils, especially soil OM content, the C:N ratio, and exchangeable cation concentrations, appeared to be linked to a higher density of several taxa and to the selection of attributes of special traits/ecological preferences in

Collembola and macrofauna communities. In these soils, *e.g.* soil A, a constructed compost-amended soil, the OM content was associated with the presence of Collembola *Lepidocyrtus lanuginosus* and *Isotomiella minor*, found at high densities in soils with high OM contents (Santorufio *et al.*, 2014) and in coal mine spoil tip soils (Vanhee *et al.*, 2017). These species are considered as forest-inhabiting species (Heiniger *et al.*, 2015). They have been showed to prefer soils with dense vegetation (high plant biomass) and rich in OM (Gillet and Ponge, 2004; Fjellberg, 2007; Dunger and Schlitt, 2011). The OM content, which was the highest in soil A owing to compost addition, appeared to positively influence the density of forest- and grassland-inhabiting Collembola in our study, but had no effect on the macrofauna. Collembola communities could be more driven by fine OM (only OM smaller than 2 mm was assessed in this study) than macrofauna because of the size of the food they eat.

The higher proportion of wetland-inhabiting macrofauna sampled in soils D and C (settling pond and coking plant soils, respectively) could be explained by a high C:N ratio, another soil fertility parameter. Wetlands harbor plant communities with a high C:N ratio that are decomposed slowly (Plum, 2005), and can in turn result in a high soil C:N ratio.

The soil CEC was linked to the proportion of invertebrates without a mouthpart, mainly represented by earthworms, in soil B (soil constructed with ground construction and demolition wastes). The selection of earthworm populations (geophagous invertebrates without a mouthpart) by high soil CEC has already been observed in soils of oil palm plantations and agricultural areas (Sabrina *et al.*, 2009; Hedde *et al.*, 2012). The authors underlined that the effects of CEC on earthworm populations was similar to the effects of organic carbon. In our study, a significant positive correlation was observed between earthworm density and OM content ($R^2=0.26$; $P=0.01$) and between earthworm density and CEC values ($R^2=0.40$, $P<0.001$). The CEC also seemed to be an important factor on Collembola species characterized by trait attributes linked to a high dependence on soil as a habitat. These attributes were as follows: “soil-inhabiting”, “inhabiting root micro-habitats” and “low number of ocelli”.

Calcium and magnesium concentrations in the soils also appeared to alter the proportion of chewing mouth-part type macrofauna that we assumed to use herbaceous litter as food. An explanation of this abiotic-biotic link could be that the Ca concentrations in plants and consequently in litter originate from the soil. Thus, in the studied soils, litter calcium might have come from the materials used for constructing soils, and may have influenced the functional structure of soil invertebrates by selecting certain species with a specific mouth-part type.

The P concentration was associated with mineral micro-habitat-inhabiting macrofauna in all soils, but no explanation was found for this result. We noticed that the pH did not influence community structures, perhaps because the pH range across the soils was low.

Secondly, in all six soils, heavy metal concentrations seemed to influence the density of certain species and to alter the functional community structure of the soil biodiversity. For Collembola communities, *Proisotoma minuta* was only found in the soil (F) with the highest heavy-metal concentration. *P.minuta* has already been shown as an indicator of manure or slurry pollution and predominates in decaying sewage sludge (Dunger and Schlitt, 2011). It seems to be a generalist species adapted to different ecosystems likely to be altered.

Steninae and *B.caucasicus* were in the highest density in the soils with the highest Pb and Zn concentrations (soil D and mainly 3 samples of soil C). No link between heavy metal contamination and these taxa was found in the literature. These taxa were only found in damp environments and post-fire soils that are particularly disturbed habitats (Betz, 2002; Bargmann *et al.*, 2015). Furthermore, in our study, available soil Pb concentrations seemed to influence earthworm density: the highest earthworm density was found in soils with low heavy metal contamination (A and B) as compared to other soils. This impact of Pb concentrations on earthworm communities has been shown by Lévêque *et al.* (2015), who observed a low earthworm density in soils near a Pb-recycling factory containing a high total Pb concentration (2,010 mg.kg⁻¹ of Pb on average, that is a higher concentration than in our soils). Pižl and Josens (1995) also observed a low earthworm density in soils with a moderate Pb concentration (89 ind.m⁻² in a soil containing 108 mg.kg⁻¹ of total Pb) as compared to a soil with a low Pb concentration (490 ind.m⁻² in a soil containing 25 mg.kg⁻¹ of total Pb). In our study, we found 42 and 48 earthworms.m⁻² on average in the soils with the highest total Pb concentrations (346 and 339 mg.kg⁻¹ for soils C and D, respectively) and 112 and 45 earthworms.m⁻² on average in the soils with the lowest total Pb concentrations (41 and 37 mg.kg⁻¹ for soils B and E, respectively). Total Pb concentrations differed from available Pb concentrations. Other authors have also shown that earthworms were sensitive to metal pollution (Nahmani and Lavelle, 2002; Nahmani *et al.*, 2005).

Our results show that a higher available soil Zn concentration was associated with a higher density of sclerotized macrofauna individuals. We can hypothesize that organisms with sclerotized integuments are more protected against pollutants because sclerotized integuments provide defence against chemical attacks (Linz *et al.*, 2016). By contrast, soft-body individuals may be directly exposed to pollution by direct skin contact. A negative correlation has already been observed between the proportion of soft-body individuals and heavy-metal soil concentrations (Hedde *et al.*, 2012). Moreover, in the present study, the proportion of individuals inhabiting in

mineral micro-habitats was linked to the Cd concentration, but no explanation was found in the literature.

Euedaphic Collembola are considered as the most sensitive living forms to heavy metal contamination according to several studies (Fountain and Hopkin, 2004; Parisi *et al.*, 2005; Joimel, 2015). Epedaphic Collembola, are more resistant to pollutants than euedaphic Collembola because they have a higher movement ability and a lower direct contact with soil particles they (Fountain and Hopkin, 2004). This result is consistent with our findings: the derelict soil with the highest heavy metal concentrations (soil F) did not host euedaphic Collembola. Moreover, the proportion of euedaphic Collembola was strongly correlated with the proportion of blind (ocellus-deprived) Collembola ($R^2=0,97$, $P<0.01$), suggesting relationships (*i.e.* correlations) among traits (Malcicka *et al.*, 2017; Vanhee *et al.*, 2017). In the present study, the heavy metal concentration also appeared to positively drive the proportion of Collembola with a maximum number of ocelli, as observed previously for soil Pb concentrations (Joimel, 2015). The number of ocelli is an indicator of the dispersal ability of Collembola since species with a complete visual apparatus can disperse rapidly (Ponge *et al.*, 2006; Salmon *et al.*, 2014). Several authors underlined that Collembola with a high dispersal ability were present in disturbed environments (Auclerc *et al.*, 2009; Salmon *et al.*, 2014; Joimel, 2015). Thus, the heavy metal concentrations of our soils, though low as compared to other studies on anthropogenic soils, appeared to have selected Collembola with a high dispersal ability linked to specific morphological traits. In the same vein, the highest proportion of Collembola with sexual reproduction was observed in soil F, which contained the highest heavy metal concentrations. A higher proportion of sexual reproduction species as compared to parthenogenetic Collembola species has been reported in copper-polluted environments (Niklasson *et al.*, 2000). The reproduction type of Collembola is associated with survival or colonizing strategies (Salmon *et al.*, 2014). Sexual reproduction favors polymorphism and is an advantage for colonizing disturbed ecosystems like polluted soils on a long term (Austruy *et al.*, 2016). Soil PAH concentrations were associated with the proportion of mineral micro-habitat-inhabiting macrofauna. This result is hard to explain, since to our knowledge no study has ever been carried out on the effect of hydrocarbon concentration and micro-habitat preference of the soil macrofauna.

IV.2. Trait-based functional soil community structures as an approach to differentiate derelict soils

Differences in soil biodiversity community structures were recorded among the six derelict soils, especially between soils A and F. Moreover, the taxonomic and functional richness of the macrofauna were significantly the highest in soil A. This constructed compost-amended soil

probably contained a high quantity of food resources and many potential different niches, with no heavy metal contamination but a low PAH contamination. It hosted the highest earthworm density (macrofauna detritivores without a specific mouth part type). The presence of earthworms is currently considered as a good indicator of the absence of disturbance such as metal contamination and land-use intensification (Nahmani and Lavelle, 2002; Pérès *et al.*, 2011; Cluzeau *et al.*, 2012).

In contrast with the macrofauna, soil A hosted the lowest Collembola taxonomic richness and a low Collembola functional richness. Collembola communities may be driven by dead OM diversity likely to provide a high number of potential niches for hosting a high Collembola diversity (Sabais *et al.*, 2011; Joimel, 2015; Vanhee *et al.*, 2017), whereas the macrofauna community is thought to be driven by the quantities of aboveground herbaceous material (Cole *et al.*, 2006). Soil A had a low herbaceous richness, consequently a low litter variability, and was unfavorable to a high Collembola diversity. By contrast, soil A also had a high herbaceous shoot biomass favorable to high macrofauna diversity (Vincent *et al.*, 2018). Moreover, we can suggest that competition for resources between meso- and macro organisms can occur at one given time, and could explain the negative correlation between the two communities ($R^2=0.27$, $P<0.01$). For example, Eisenhauer (2010) showed negative impacts of endogeic earthworms due to competition for food resources with microarthropods. Earthworms can also affect the mesofauna community by modifying, maintaining, creating or destroying habitats (Eisenhauer, 2010; Wright *et al.*, 2012).

Soil F had the lowest fertility level and the highest heavy metal concentration, and harbored the highest taxonomic diversity but a low functional diversity of Collembola. This might suggest functional redundancy of species within the community, defined as several species contributing in equivalent ways to an ecosystem function such that one species may substitute for another (Bruno *et al.*, 2016). Species that are functionally redundant act as 'spare wheels' during a disturbance to maintain ecosystem functions (Cole *et al.*, 2006). Functional redundancy of species in a given community might be interesting in disturbed habitats, and then a community composed of species with similar functional traits might be more resilient to a new disturbance (Gerisch, 2014; Hodecek *et al.*, 2016). According to the trait-based approach, individuals with a long body, several ocelli, a PAO organ, a sexual reproduction type, an epiedaphic living form and a pigmented body mainly represented the Collembola community in soil F. All of these trait attributes are characteristic of organisms inhabiting in urban environments (Santorufu *et al.*, 2014), and are linked to a good dispersal ability that allows adaptation to disturbed habitats. The age effect was not a major factor explaining the functional structure of communities according to the RLQ. Yet, we may expect links between the fact that soil F was the youngest plot and that it hosted a community rich in high dispersal capacity species, which are best adapted for site colonization.

To differentiate derelict soils according to traits and ecological preferences, soil abiotic parameters did not seem to be the only drivers. Some Collembola species encountered in the derelict soils are also found in soils with a scarce vegetation cover. That was the case for *Bourletiella hortensis*, *Desoria tigrina*, *Desoria violacea*, *Entomobrya lanuginosus*, *Isotoma anglicana* and *viridis*, *Parisotoma notabilis*, and *P.minuta* (Burrow, 2015), which have a long body, several ocelli, a PAO organ, a sexual reproduction type, and a pigmented body, characteristic of epiedaphic living forms. Epiedaphic Collembola have a strong dispersal ability, and can be found in soils with a scarce vegetation cover since they are adapted to surface life, notably to dry and bright environments (Salmon *et al.*, 2014; Vanhee *et al.*, 2017). Thus, soil F, harbored a higher proportion of epiedaphic Collembola than soils A, B, C and D, characteristic of disturbed ecosystems as specified previously, but also characteristic of scarce vegetation environments. Therefore we assume that a scarce vegetation cover can be linked to the instability of an ecosystem.

Furthermore, in order to better understand the variability of community structures across sites, the surrounding landscape would have to be taken into account. In our derelict soils, we found that communities were dominated by forest and grassland habitat taxa, which can be explained by the surrounding landscapes around the sites as developed by Vanhee *et al.* (2017) and Baranova *et al.* (2014). The variation in Collembola taxonomic and functional community structures is influenced by spatial factors (Widenfalk *et al.*, 2016) notably due to differences in microclimate between forest or pasture habitats (Heiniger *et al.*, 2015). Duflot *et al.* (2014) also showed that landscape heterogeneity acts as an ecological filter on the functional community structure of carabid beetles by contributing to the selection of phenology, reproduction and dispersal traits. In our study, sites C, D and E were surrounded by forests, while sites A, B and F were surrounded by grasslands. This could explain the significant higher proportion of euedaphic, blind and non-pigmented Collembola in soils C, D and E, characteristics traits of forest-inhabiting species (Salmon *et al.*, 2014). According to Auclerc *et al.* (2009), species need to be more mobile to persist in disturbed soils, which can be meadow soils, as compared to forest soils. Moreover, the presence of pigmented Collembola was mainly related to the presence of a very thin litter layer and a scarce vegetation cover that are characteristic of grassland because pigmentation protects organisms from UV radiation (Salmon and Ponge, 2012).

The nearby environment might also affect the proportion of soil predators in the community. For instance, Schirmel *et al.* (2016) found a higher proportion of predatory carabids in woody semi-natural habitats than in herbaceous habitats. Therefore we can suggest that soils D and E hosted a higher proportion of predators than soil C because soils D and E were surrounded by a dense forest possibly acting as a biodiversity reserve while soil C was surrounded by a light forest.

Finally, the proportion of macrofauna inhabiting wet habitats was higher in the soil D than in the other soils. For soil D, it could be explained by the proximity to a river (*ca.* 70 m away). For soil E, a little gutter was present along the site and may have acted as a regular water point. The proportion of Collembola inhabiting wetland habitats was higher in soil F than in soils A, B, C and D. The inefficient irrigation system in this experimental constructed soil F probably allow for colonization by wet-habitat species. Moreover, these species may have come from a nearby pond located at 300 m distance and been brought by trucks and human activities during the soil construction process or wind or animals (Costa *et al.*, 2013).

V. CONCLUSION

Fertility parameters (OM content, C:N ratio, P, Ca and Mg concentrations, CEC, clay content) and moderate contamination levels (Pb, Cd, Zn, and PAH concentrations) of 6 derelict soils altered the taxonomic and functional structures of Collembola and macrofauna communities. Our trait-based approach allowed us to better understand the functioning of the soils, but also their stability and surrounding landscapes. The soils were derelict because of their historical record (past industrial activities or construction from different materials), and differed according to many abiotic and biotic parameters. Soil A (compost-amended constructed soil) was more fertile and less contaminated than the other soils, and exhibited taxonomic and functional community structures of low disturbed soil. It could be directly re-used for non-food biomass production (*e.g.* wood or plant fiber production) if stakeholders decide so. In contrast, soil F (heavy-metal-contaminated constructed soil) was highly contaminated in comparison with the other 5 soils. It harbored a higher proportion of Collembola with the traits and ecological preferences of both unstable and scarcely vegetated ecosystems. It should not be directly used for any kind of plant biomass production without prior remediation and fertility improvement. As regards diversity indices, the study of Collembola and macrofauna communities showed different results attributable to high differences in living modes between the two soil invertebrate communities (*e.g.* feeding groups and niche scales). The surrounding environment could also play an important role in the functional community structure of derelict soils and their recolonization by biodiversity. A landscape ecology approach could be interesting to better characterize the dynamics of community installation in derelict soils over time.

Acknowledgements

This work was carried out within the GISFI (Groupement d'intérêt scientifique sur les friches industrielles, www.gisfi.fr), within the framework of the LORVER project (www.lorver.org). It was supported by the French Lorraine Region and the European Regional Development Fund (ERDF). The authors wish to thank Mickaël Hedde and Jodie Thénard for identifying ground beetles and a few other coleoptera, and BETSI project colleagues for providing access to their database. We also thank Sandrine Salmon and Johanne Nahmani for coding the traits of numerous Collembola species, and Sophie Joimel for providing the Collembola trait database. We also thank the technical staff of the GISFI, LIEC and LSE for the sampling campaign, particularly Alain Rakoto.

Supplementary data

Code name	Complete name
ANU_PYG	<i>Micranurida pygmaea</i> Börner, 1901
BOU_HOR	<i>Bourletiella (Bourletiella) hortensis</i> (Fitch, 1863)
CER_DEN	<i>Ceratophysella denticulata</i> (Bagnall, 1941)
CYP_ALB	<i>Cyphoderus albinus</i> Nicolet, 1842
DES_TIG	<i>Desoria tigrina</i> Nicolet, 1842
DES_VIO	<i>Desoria violacea</i> (Tullberg, 1876)
ENT_LAN	<i>Entomobrya lanuginosa</i> (Nicolet, 1841)
FODES_PAR	<i>Folsomides parvulus</i> Stach, 1922
FOL_FIM	<i>Folsomia fimetaria</i> (Linnaeus, 1758)
ISA_VIR	<i>Isotoma viridis</i> Bourlet, 1839
ISO_MIN	<i>Isotomiella minor</i> (Schaeffer, 1896)
ISU_ANT	<i>Isotomurus antennalis</i> Bagnall, 1940
ISU_FUC	<i>Isotomurus fucicola</i> Reuter, 1891
ISU_PAL	<i>Isotomurus palustris</i> (Müller, 1776)
LEP_CYA	<i>Lepidocyrtus cyaneus</i> Tullberg, 1871
LEP_LAN	<i>Lepidocyrtus lanuginosus</i> (Gmelin, 1788)
LEP_LIG	<i>Lepidocyrtus lignorum</i> (Fabricius, 1793)
LEP_PAR	<i>Lepidocyrtus paradoxus</i> Uzel, 1890
LEP_VIO	<i>Lepidocyrtus violaceus</i> (Geoffroy, 1762)
MET_AFF	<i>Metaphorura affinis</i> (Börner, 1903)
NEA_MUS	<i>Neanura muscorum</i> (Templeton, 1835)
NEE_MUR	<i>Neelus murinus</i> Folsom, 1896
PAR_NOT	<i>Parisotoma notabilis</i> (Schaeffer, 1896)
PATUL_CAL	<i>Paratullbergia callipygos</i> (Börner, 1902)
PRO_MIN	<i>Proisotoma minuta</i> (Tullberg, 1871)
PSE_IMM	<i>Pseudosinella immaculata</i> (Lie-Pettersen, 1896)
SMIDES_MAL	<i>Sminthurides malmgreni</i> (Tullberg, 1876)
SMIDES_SCH	<i>Sminthurides schoetti</i> Axelson, 1903
SMIDES_SIG	<i>Sminthurides signatus</i> (Krausbauer, 1898)
SMINUS_ELE	<i>Sminthurinus elegans</i> (Fitch, 1863)
SPH_PUM	<i>Sphaeridia pumilis</i> (Krausbauer, 1898)
STE_QUA	<i>Stenaphorurella quadrispina</i> (Börner, 1901)
XEN_BOE	<i>Xenylla boernerii</i> Axelson, 1905

Appendix 4.A: List of Collembola species with the codes and complete names.

Code name	Complete name
A.meridianus	<i>Acupalpus meridianus</i> (Linnaeus, 1761)
Agriotes	<i>Agriotes</i> Eschscholtz, 1829
A.oculata	<i>Allolobophora (sensu lato) oculata oculata</i> Bouche, 1972
A.chlorotica	<i>Allolobophora chlorotica chlorotica</i> (Savigny, 1826)
A.aenea	<i>Amara (Amara) aenea</i> (De Geer, 1774)
Amara	<i>Amara (Amara)</i> Bonelli 1810
A.familiaris	<i>Amara (Amara) familiaris</i> (Duftschmid, 1812)
A.caliginosa	<i>Aporrectodea caliginosa caliginosa</i> (Savigny, 1826)
A.longa	<i>Aporrectodea longa longa</i> (Ude, 1885)
A.rosea	<i>Aporrectodea rosea rosea</i> (Savigny, 1826)
Athous	<i>Athous</i> Eschscholtz, 1829
B.ballatus	<i>Badister (Badister) bullatus</i> (Schrank, 1798)
B.caucasicus	<i>Bradycellus (Bradycellus) caucasicus</i> (Chaudoir, 1846)
Carabidae	<i>Carabidae</i> Latreille, 1802
C.dorsalis	<i>Carabus dorsalis</i> Pontoppidan, 1763
C.lampros	<i>Carabus lampros</i> Herbst, 1784
Chrysomelidae	<i>Chrysomelidae</i>
C.subtilis	<i>Clubiona subtilis</i> L. Koch, 1867
Curculionidae	<i>Curculionidae</i>
Dermaptera	<i>Dermaptera</i>
D.pilosus	<i>Diporodrilus pilosus pilosus</i> Bouché, 1970
Diptera	<i>Diptera</i> (larvae)
D.angustus	<i>Dromius (Dromius) angustus angustus</i> Brulle, 1834
Elateridae	<i>Elateridae</i> Leach, 1815
Geophilidae	<i>Geophilidae</i>
H.pusilla	<i>Hahnia pusilla</i> C.L. Koch, 1841
H.affinis	<i>Harpalus (Harpalus) affinis</i> (Schrank, 1781)
Hygromiidae	<i>Hygromiidae</i>
Isopoda	<i>Isopoda</i>
Julida	<i>Julida</i>
Lepidoptera	<i>Lepidoptera</i> (larvae)
Limacidae	<i>Limacidae</i>
Linyphiidae	<i>Linyphiidae</i>
Lithobiidae	<i>Lithobiidae</i>
L.rubellus	<i>Lumbricus rubellus rubellus</i> Hoffmeister, 1843
Melolonthidae	<i>Melolonthidae</i>
Miridae	<i>Miridae</i>
O.sabulosus	<i>Ommatoiulus sabulosus</i> (Linnaeus, 1758)
P.pullata	<i>Pardosa pullata</i> (Clerck, 1757)
P.melanocephalus	<i>Philorhizus melanocephalus</i> (Dejean, 1825)
Polydesmidae	<i>Polydesmidae</i>
Polyphaga	<i>Polyphaga</i>
R.arundineti	<i>Robertus arundineti</i> (O. P.-Cambridge, 1871)
Staphylinidae	<i>Staphylinidae</i> Latreille, 1802
Steninae	<i>Steninae</i>
S.foveatus	<i>Syntomus foveatus</i> (Geoffroy in Fourcroy, 1785)
Tachyporinae	<i>Tachyporinae</i>

Appendix 4.B: List of macrofauna taxa with the codes and complete names.

Chapitre 5 :

Etude de la structure des communautés fongiques dans six sols délaissés par une approche taxonomique et une approche « trait »



Les micro-organismes constituent une part importante de la biodiversité des sols, tant sur le plan taxonomique que fonctionnel (cycles biogéochimiques, recyclage des nutriments, dynamique des polluants, croissance des plantes ou encore structuration du sol). Parmi les micro-organismes les plus abondants dans les sols, les champignons interviennent dans de nombreuses fonctions, liées notamment à leurs modes trophiques. Ainsi, les champignons peuvent être saprophytes, pathogènes, mycorhiziens et endophytes, correspondant à des attributs du trait « mode trophique » (Andrade-linares et Patterns, 2013; Chadha *et al.*, 2014).

Les communautés fongiques peuvent être impactées par les activités humaines, ce qui peut affecter certains groupes trophiques en particulier, causant d'éventuelles modifications dans les fonctions écologiques (Kandeler *et al.*, 1996 ; Stefanowicz *et al.*, 2008 ; Borowik *et al.*, 2017). Comme les sols fortement anthropisés et délaissés ont des propriétés physico-chimiques particulières (faible fertilité, contamination modérée) et qu'ils sont laissés à l'abandon, il est possible que les communautés fongiques soient également particulières. L'objectif de ce chapitre était donc de caractériser la structure taxonomique et fonctionnelle des communautés fongiques dans des sols délaissés.

Dans le chapitre 3, nous avons montré que les sols délaissés présentaient des richesses fongiques différentes entre les sols. Toutefois, ces résultats portaient sur la richesse de bandes majoritaires issue d'une technique d'empreintes moléculaires, et ne permettaient pas d'avoir une estimation réelle de la biodiversité. Ainsi, une étude plus approfondie, en utilisant des méthodes plus exhaustives de caractérisation des communautés fongiques, semble nécessaire pour mieux comprendre les différences entre les sols. De plus, nous avons vu dans le chapitre 4 que les structures taxonomiques et fonctionnelles des communautés faunistiques étaient différentes entre les sols, liées notamment aux paramètres physico-chimiques de ces sols. Ainsi, il est probable que les structures des communautés fongiques soient également différentes selon les sols délaissés étudiés. Comme pour les communautés faunistiques, une approche de la diversité fonctionnelle basée sur les traits a été réalisée pour la communauté fongique. Cette approche « trait » est de plus en plus utilisée pour l'étude de la faune et les végétaux. L'étude des traits fongiques est innovante car les concepts et les outils sont récents et encore peu discutés, mais des outils se sont récemment développés. Ainsi, le trait « mode trophique » a été étudié dans ce chapitre.

Pour cela, la structure taxonomique et fonctionnelle des communautés fongiques a été étudiée dans les 6 sols délaissés étudiés dans les chapitres 3 et 4. Les échantillons de sols et de racines prélevés précédemment ont fait l'objet d'une analyse de la structure des communautés dans les deux types d'échantillons. Les taxons fongiques ont été identifiés à l'issue d'un séquençage à haut débit (méthode Illumina). Comme dans le chapitre 4, l'utilisation d'une base de données (ici

FUNGuild) a permis de convertir la structure taxonomique des communautés fongiques en structure fonctionnelle.

Dans ce chapitre, nous avons montré une faible diversité fongique dans ces sols délaissés par rapport à des sols forestiers, prairiaux, agricoles et urbains. De plus, les communautés semblent particulières au niveau de la famille. En effet, certains taxons (comme les *Nectriaceae*, les *Herpotrichiellaceae* ou les *Pleurotaceae*) sont retrouvés à de fortes densités par rapport à des sols forestiers, prairiaux, agricoles et urbains. Une plus forte densité en basidiomycètes a été constatée dans le sol construit et contaminé en ETM (sol F), probablement due à la présence de ligneux et de la contamination métallique sur ce site. Toutefois, lorsque l'on regarde la communauté selon le mode trophique, les communautés sont peu différentes de celles observées dans d'autres types de sols, laissant supposer un fonctionnement biologique comparable. Seule une plus faible proportion de champignons ectomycorhiziens est observée dans les sols délaissés étudiés, probablement en lien avec le couvert végétal principalement composé d'herbacées. De fortes teneurs en MO, en P et une forte CEC et CRE dans les sols semblent favoriser l'abondance des champignons saprophytes, caractéristique du sol construit amendé en compost (sol A). Par contre, la structure des communautés taxonomiques et fonctionnelles fongiques racinaires présente peu de différences entre les sols et ne semble pas être directement liée aux paramètres physico-chimiques des sols. Le couvert végétal et les paramètres physico-chimiques rhizosphériques pourraient être les facteurs modifiant les communautés fongiques racinaires.

Etude de la structure des communautés fongiques dans six sols délaissés par une approche taxonomique et une approche « trait ».

I. INTRODUCTION

Les microorganismes constituent une part importante de la biodiversité des sols, tant sur le plan taxonomique que fonctionnel. Ces microorganismes jouent un rôle essentiel dans les cycles biogéochimiques, le recyclage des nutriments, la dynamique des polluants, la croissance des plantes ou encore la structuration du sol (Bertrand *et al.*, 2011). Parmi les micro-organismes les plus abondants dans les sols, les champignons interviennent dans de nombreux processus, en lien notamment avec leurs modes trophiques (Tedersoo *et al.*, 2014) (voir III.2.2.2. du chapitre 1 « Etat de l'art »). Ces modes trophiques conditionnent directement le type d'habitat dans lesquels les champignons se trouvent. Certains champignons sont associés aux racines des plantes. Cette association peut être symbiotique, dans le cas des champignons mycorhiziens, qui améliorent la croissance et la nutrition minérale des plantes, et leur tolérance au stress (Leyval *et al.*, 1997; Nara, 2006; Smith et Read, 2008). L'association avec les plantes peut également être non symbiotique. C'est le cas des champignons endophytes, qui peuvent favoriser la nutrition des plantes et leur résistance à des stress biotiques et abiotiques (Rodriguez *et al.*, 2009; Chadha *et al.*, 2014). Par contre, certains champignons sont pathogènes, car ils nuisent au développement des plantes (Agtmaal *et al.*, 2017), ou des animaux (Sinha *et al.*, 2016). Enfin, d'autres champignons ne sont pas en association avec d'autres organismes et vivent dans le sol ou des matériaux en décomposition. Ces champignons saprophytes interviennent dans la minéralisation de la matière organique (MO) (Setälä et McLean, 2004). Ainsi, l'étude de la structure taxonomique et fonctionnelle des communautés permet de mieux comprendre le fonctionnement biologique des sols, notamment lorsque ceux-ci sont perturbés.

Au cours du siècle dernier, les activités humaines ont considérablement perturbé le fonctionnement des sols (Levin *et al.*, 2017). La crise économique industrielle a conduit à la fermeture d'entreprises dans le domaine de l'industrie sidérurgique, minière et des cokeries, ce qui a conduit à l'abandon de nombreux sites et sols (Wong et Bradshaw, 2002). Parfois appelés friches, terrains vagues ou sols abandonnés, ces sols délaissés restent sans usage (Cundy *et al.*, 2016) car ils ont été perturbés et sont souvent peu fertiles et/ou potentiellement contaminés

(Dickinson, 2003; Morel *et al.*, 2005). Ces sols sont caractérisés par des propriétés physico-chimiques particulières : une faible teneur en MO et en azote, une faible capacité d'échange cationique (CEC), un pH alcalin, avec parfois un excès ou une limitation en cations ainsi qu'une contamination organique et métallique modérée (Vincent *et al.*, 2018).

Les caractéristiques physico-chimiques de ces sols fortement anthropisés modifient la structure taxonomique et fonctionnelle des communautés fongiques (Kandeler *et al.*, 1996; Leyval *et al.*, 1997; Bourceret *et al.*, 2016; Borowik *et al.*, 2017). Par exemple, la contamination en éléments traces métalliques (ETM) favorisait l'abondance de certains taxa fongiques parmi les ascomycètes (*Helotiaceae* et *Sebacinaceae*; Narendrula-Kotha et Nkongolo, 2017) et diminuait la richesse en champignons mycorhiziens à arbuscules à de fortes concentrations (Del Val *et al.*, 1999). Toutefois, la plupart des études se focalisent sur un seul type de champignons, ne prenant pas en compte la totalité de la communauté, et se limitent à un mode trophique. La prise en compte de l'ensemble des champignons selon leurs modes trophiques permettrait de mieux comprendre le fonctionnement de ces sols, comme l'ont récemment montré Strickland *et al.* (2017). Dans ce cas, c'est la totalité des taxons représentant la communauté qui doit être affiliée à des modes trophiques (Webb *et al.*, 2010; Chown 2012; Mouillot *et al.*, 2013). Les outils permettant de caractériser la communauté fongique par sa structure fonctionnelle en utilisant sa structure taxonomique, auparavant inexistantes, ont été très récemment développés. C'est le cas de l'outil FUNGuild développé par Nguyen *et al.* (2016).

Les quelques travaux sur les modes trophiques fongiques (en utilisant FUNGuild ou non) dans les sols anthropisés portent sur des sols aux propriétés abiotiques très contrastées, souvent fortement contaminés, avec des usages différents (Karliński *et al.*, 2010; Regvar *et al.*, 2010; Benitez *et al.*, 2016; Nguyen *et al.*, 2016). Peu d'études portent sur le fonctionnement des sols peu ou pas contaminés tels que les sols délaissés, et sur les facteurs abiotiques influençant la structure fonctionnelle des communautés fongiques. Enfin, la plupart des études évaluent le fonctionnement biologique à partir d'échantillons de sol, alors que de nombreux champignons sont associés au système racinaire (champignons symbiotiques et endophytes). Cela nécessite donc l'échantillonnage de plusieurs microhabitats afin d'estimer au mieux le fonctionnement global d'un sol.

Dans le chapitre 3 et dans l'article Vincent *et al.* (2018), nous avons caractérisé six sols délaissés, provenant de deux anciennes cokeries, d'un ancien bassin à boue sidérurgique, d'une installation de stockage de déchet inerte, et deux sols construits, par leur propriétés physico-chimiques, biologiques et fonctionnelles. Nous avons montré qu'une biodiversité importante était présente dans ces sols, et une co-variation des paramètres de fertilité avec les paramètres de

densité et de diversité des microorganismes, estimées par la quantification des gènes d'ADNr 16S et 18S et par une technique d'empreinte moléculaire. Nous avons aussi montré la présence de champignons mycorhiziens à arbuscules dans les racines. L'objectif de l'étude présentée ici était d'étudier la structure des champignons dans ces six mêmes sols délaissés, par une approche taxonomique issue d'un séquençage haut débit et par une approche originale basée sur les traits - très récemment appréhendée pour les champignons - notamment le trait correspondant au mode trophique. L'analyse a été réalisée à partir d'échantillons de sols et de racines d'herbacées prélevés sur les sites.

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Les sols délaissés étudiés

Six sols ont été prélevés sur des sites délaissés dans le nord-est de la France en avril 2015 (Vincent *et al.*, 2018). Cette région, caractérisée par un fort passé industriel, possède de nombreux anciens sites de cokeries et sidérurgiques. Le climat de cette région est océanique à influence continental, avec une moyenne annuelle de température comprise entre 1,4 et 18,5°C et une pluviométrie annuelle d'environ 750 mm.

Le sol A est un Spolic Garbic Technosol (IUSS Working Group WRB, 2014). Il s'agit d'un sol construit (1,13 ha) en 2007, sur un ancien site de cokerie (Sere *et al.*, 2008). Ce sol est composé de boues de papeterie, de terres contaminées par des Hydrocarbures aromatiques polycyclique (HAP) qui ont été traitées par thermo-désorption et de déchets verts compostés. Le sol B est un Skeletic Technosol. Il a été prélevé sur le site d'une installation de stockage de déchets inertes (0,7 ha) construit en 2011 à partir de granulats (déchets de construction et de démolition de bâtiments). Les sols C et E sont des Spolic Technosols, situés sur des anciennes cokeries, fermées respectivement en 1980 et 1975. Ils diffèrent par leurs concentrations en polluants. Le sol D est également un Spolic Technosol mais provient d'un site de bassin à boues sidérurgiques exploité jusqu'à 1981. Enfin, le sol F, un Spolic Technosol, est un sol construit d'un dispositif de parcelles expérimentales (0,09 ha) mis en place en 2013 et décrit dans le chapitre 6. Ce sol est composé de terre contaminée par des hydrocarbures, dont des HAP, qui a été traitée par biopile, mélangée à des boues contaminées aux métaux lourds. Chacune des quatre modalités de ce Technosol, dans la sous-parcelle plantée de peupliers (*Populus trichocarpa* × *P.maximowiczii* – pépinière Vandromme), a été échantillonnée (échantillon composite). Deux des quatre points de

prélèvement de ce sol sont des modalités expérimentales dans lesquelles un mélange de champignons mycorhiziens a été inoculé (endomycorhizien ; *Rhizophagus irregularis* et ectomycorhizien *Pisolithus tinctorius*) au niveau des racines des peupliers. Plus d'informations sur les sites, les sols et les cultures de peupliers avec l'inoculation des champignons mycorhiziens sont détaillées dans le chapitre « Matériel et méthodes » du manuscrit.

II.2. Méthode d'échantillonnage du sol et des racines

Cinq points d'échantillonnage ont été réalisés par sol (sauf pour le sol F où seuls quatre échantillons ont été prélevés), le long d'un transect de 20 m avec 5 m de distance entre chaque point d'échantillonnage selon le protocole *Tropical Soil Biology et Fertility* (TSBF) (Anderson et Ingram, 1993). Chaque point d'échantillonnage est un composite de 4 sous échantillons de 0,1 m de profondeur pour 0,1×0,1 m de surface (Vincent *et al.*, 2018). Ainsi, pour chaque point d'échantillonnage, environ 5 kg de sol a été prélevé, ainsi que plusieurs racines de plantes herbacées, prises aléatoirement. Le sol et les racines ont été conservés à -20°C le jour de l'échantillonnage jusqu'à l'analyse. Les analyses des échantillons de sol prélevés sont présentées dans le chapitre 3 (Vincent *et al.*, 2018).

II.4. Caractérisation de la structure taxonomique des communautés fongiques du sol et des racines

L'ADN provenant du sol a été extrait grâce à un kit d'extraction commercial (FastDNA™ SPIN KIT (MP Biomedicals) et celui des racines a été extrait grâce à un autre kit d'extraction, commercial DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen®), tous deux en suivant les recommandations des fournisseurs. Le gène codant l'ARN 18S (environ 350 pb) a été amplifié par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) à partir des extraits d'ADN en utilisant la stratégie d'indexation double ou *dual indexing strategy* (Kozich *et al.*, 2013) avec les amorces FR1 (17 pb) et FF390 (18 pb) (Prevost-Boure *et al.*, 2011). La réaction de PCR est réalisée à partir de 2 µl d'ADN génomique dilué dans un volume final de 50 µl, contenant 10 µl d'un tampon Phusion haute-fidélité 5X, 1,5 µL de 50 mM de MgCl₂, 0,25 µl de DMSO (diméthylsulfoxyde), 0,1 µl de bactériophage T4 gp32 (MPBiomedicals, France), 0,1 µl de polymérase haute-fidélité Phusion (Thermo Scientific) et 1 µl de chaque primer à 10 mM. Les 34 cycles des réactions de PCR ont été réalisés selon les étapes suivantes : 22 cycles à 63°C avec une réduction de 0,5°C à chaque cycle suivi de 12 cycles à 52°C. Les détails des conditions de PCR sont décrits dans le chapitre 2 « Matériel et méthodes ». La qualité des produits d'amplifications a été vérifiée par électrophorèse sur gel à 1% d'agarose. Ces produits ont ensuite été purifiés grâce à un kit commercial, UltraClean-htp 96 well PCR Clean-Up (MoBio). Après quantification de l'ADN par le kit Quant-iT Picogreen ds-DNA (Invitrogen), la librairie d'amplicons a été préparée afin

d'obtenir un seul pool équimolaire (10 nM). Ce pool a été purifié par un kit commercial, QIAquick PCR (QIAGEN). La librairie d'amplicons a été envoyée à séquencer à la plateforme Genewiz (USA) en utilisant le kit Illumina MiSeq V2 pour 2×250 pb. Le séquençage des communautés fongiques des échantillons de sols et de racines a été réalisé grâce à la technologie Illumina.

Afin de retrouver les différents OTUs présent dans chaque échantillon, les données de séquençage ont été analysées par A.Cébron, suivant la procédure MiSeq SOP disponible en mai 2017 et décrite par Kozich *et al.* (2013) avec le logiciel Mothur (version 1.36.1 ; Schloss *et al.* 2009). Seules les séquences comprises entre 300 pb et 350 pb, sans bases ambiguës, ont été sélectionnées. L'alignement de séquences a été réalisé grâce à la base de données Silva. Les chimères ont été identifiées grâce à l'algorithme Uchime (Edgar *et al.*, 2011) afin d'être retirées des analyses. La taxonomie a été assignée grâce à la base de donnée Silva (cutoff=80). De plus, les singletons ont été retirés de l'analyse, ainsi que les séquences affiliées aux mitochondries, chloroplastes, archées, bactéries, *Archeplastida*, *Cryptophyceae* et aux SAR (stramenopiles, alveolata et rhizaria). Les séquences ont été regroupées en unité taxonomique opérationnelle ou *Operational Taxonomic Units* (OTUs) à 97% d'homologie avec les séquences retrouvées dans la base de données. Pour finir, le jeu de donnée d'OTUs a été réduit au plus petit nombre de séquence retrouvé dans les échantillons (2894 séquences pour les échantillons de sols et 419 séquences pour les échantillons de racines). La diversité taxonomique théorique, estimée par l'indice Chao1, a été calculée par le logiciel Mothur, pour chaque point d'échantillonnage. De même, les courbes de raréfactions ont été générées par le logiciel. La diversité taxonomique a été estimée par la richesse en OTUs et par l'équitabilité de Pielou. La richesse en OTUs correspond au nombre d'OTUs différentes et l'équitabilité de Pielou (voir partie II.3.2.1. du chapitre 2 « Matériel et méthodes »). Pour les échantillons de sol, les 29 échantillons ont pu être séquencés. En revanche, seuls 16 échantillons issus des racines ont pu être séquencés car certains échantillons contenaient trop peu d'ADN. Ainsi, n=3, n=2, n=4, n=1, n=3 et n=3 pour les racines des sols A, B, C, D, E et F, respectivement.

II.4. Caractérisation de la structure fonctionnelle des communautés fongiques du sol et des racines

La traduction de la structure taxonomique en structure fonctionnelle des communautés a été réalisée avec la base de données « FUNGuild » de Nguyen *et al.* (2016).

Pour chaque taxon (affilié *a maxima* jusqu'au genre), le trait « mode trophique » est attribué. Le mode trophique a été catégorisé en 10 attributs : «Endophyte», «Ectomycorhizien», «Endomycorhizien», «Parasite des lichens», «Parasite des champignons», «Pathogène des animaux», «Pathogène des plantes», «Saprophyte du fumier», «Saprophyte du bois et des feuilles»

et «Saprophyte du sol». Chaque taxon se retrouve dans un ou plusieurs attributs de sorte que la somme des valeurs des attributs soit 100%.

Ces auteurs ont organisé les 10 attributs en 3 grands groupes correspondant aux principaux modes trophiques ; (1) les pathogènes, qui reçoivent des nutriments en nuisant aux cellules hôtes, (2) les symbiotiques, qui reçoivent des nutriments en échangeant avec les cellules hôtes et (3) les saprophytes, qui reçoivent des nutriments par la décomposition de cellules mortes. Dans la classification de Nguyen *et al.* (2016), les endophytes sont classés dans les champignons symbiotiques alors que le type d'interaction est plutôt mutualiste (Chadha *et al.*, 2014). Nous les avons enlevés de cette catégorie pour former un groupe à part, comme l'ont fait Toju *et al.* (2016) (Tableau 5.1). Ainsi nous définissons les endophytes comme des champignons qui reçoivent des nutriments des cellules hôtes, sans échange réciproque de nutriments et sans nuire aux cellules hôtes (Chadha *et al.*, 2014).

Tableau 5.1 : Attributs du trait « mode trophique ».

Attributs du trait "Mode trophique"			Exemples	
			<i>Fusarium sp.</i>	<i>Geopora sp.</i>
Endophyte	Endophyte	Endophyte	-	-
Symbiotique	Ectomycorhizien	SYM_ecto	-	100%
	Endomycorhizien	SYM_endo	-	-
Pathogène ou parasite	Parasite des lichens	PAT_lichen	-	-
	Parasites des champignons	PAT_champi	-	-
	Pathogène des animaux	PAT_animal	-	-
	Pathogène des plantes	PAT_plant	33,3%	-
	Saprophyte du fumier	SAP_fumier	-	-
Saprophyte	Saprophyte du bois	SAP_bois	33,3%	-
	Saprophyte du sol	SAP_sol	33,3%	-

Pour passer de l'échelle du taxon à celle de la communauté, le *Community Weighted Mean* (CWM) de chaque point d'échantillonnage, pour chaque attribut, a été calculé. Il s'agit du pourcentage d'individus de la communauté appartenant à un attribut donné. Le CWM a été obtenu selon l'équation n°1 (Garnier *et al.*, 2004), où P_i est la fréquence de l'espèce i dans la communauté, n est le nombre de taxon, et $Attribut_i$ est l'affinité pour un attribut donné du taxon i .

$$(Eq. 1) \quad CWM(\%) = \sum_{i=1}^n P_i \times Attribut_i$$

II.5. Statistiques et analyses multivariées

Afin de tester les différences taxonomiques (abondance relative de chaque famille fongique) et liées aux traits (CWM de chaque attribut) des communautés de chaque sol issu des échantillons de sol ou de racines, des tests univariés ont été réalisés. Lorsque les données suivaient les conditions pour réaliser des tests paramétriques (normalité avec le test de Shapiro Wilk et l'homogénéité des variances par le test de Bartlett), une Analyse de la variance (ANOVA) à 1 facteur, suivie du test post-hoc de Tukey ont été réalisés. Lorsque les données ne suivaient pas les conditions pour réaliser des tests paramétriques, c'est le test de Kruskal-Wallis qui a été réalisé, suivi d'un test de comparaison multiple de la distribution de rang par la fonction `kruskalmc` de la librairie `pgirmess` (Giraudoux, 2017). De plus, le test de Wilcoxon-Mann-Whitney a été réalisé lors d'une comparaison de rang de deux conditions (points de prélèvements ayant reçu une inoculation de champignons mycorhiziens par rapport aux autres points de prélèvement) car le jeu de données était non paramétrique, grâce à la fonction « `wilcox.test` » (Bauer, 1972). Une régression linéaire entre la proportion en *Mortierellaceae* et la teneur en MO et une autre régression entre la richesse en OTUs et l'indice Chao1 ont été testées grâce au package « `lmtree` » du logiciel R et les corrélations ont été représentées par le coefficient de corrélation de Pearson (Hothorn *et al.*, 2015). Les tests ont été réalisés avec un niveau de significativité de 95%. Le logiciel R (version 3.1.3, Development Core Team, 2015) a été utilisé pour les tests statistiques et les analyses multivariées. Les graphiques sont issus de la library `ggplot2` (Wickham, 2009).

Dans le but de déceler des relations entre les modes trophiques et les paramètres abiotiques des sols étudiés, deux analyses RLQ ont été réalisées (Dolédéc *et al.*, 1996). L'analyse RLQ est une généralisation de l'analyse de co-inertie (Dray *et al.*, 2003). Elle est utilisée pour obtenir une ordination simultanée de 3 jeux de données : un jeu de données des paramètres abiotiques du sol pour chaque échantillon (tableau R), l'abondance relative des taxa dans chaque échantillon de sol ou de racines (tableau L) et la valeur de chaque attribut pour chaque taxa (tableau Q). La relation entre les attributs et les paramètres abiotiques du sol a été vérifiée par le test de Monte Carlo (999 permutations). L'analyse RLQ a été réalisée sur les communautés fongiques issues du sol et celle des racines, séparément, grâce à la library `ade4` (Dray et Dufour, 2007). L'analyse RLQ est une des méthodes les plus intégratives pour analyser les relations entre les attributs d'un trait et les variables environnementales (Dray et Dufour, 2007; Kleyer *et al.*, 2012).

III. RESULTATS

III.1. Diversité taxonomique des communautés fongiques du sol et des racines des sols délaissés

III.1.1. Indices de diversité taxonomique des communautés fongiques

Lors du séquençage, les courbes de raréfaction ont été générées, montrant ainsi que le nombre final d'OTUs observé est très proche de l'indice Chao1 calculé par le logiciel (Figure 5.1). Une très forte corrélation a été observée entre le nombre final d'OTUs et l'indice Chao1 ($R^2=1$; $P<0,01$). Ainsi, la quasi-totalité de la diversité fongique des échantillons de sols et de racines dans les sols délaissés a pu être mesurée lors du séquençage, et peut être illustrée par le nombre d'OTUs.

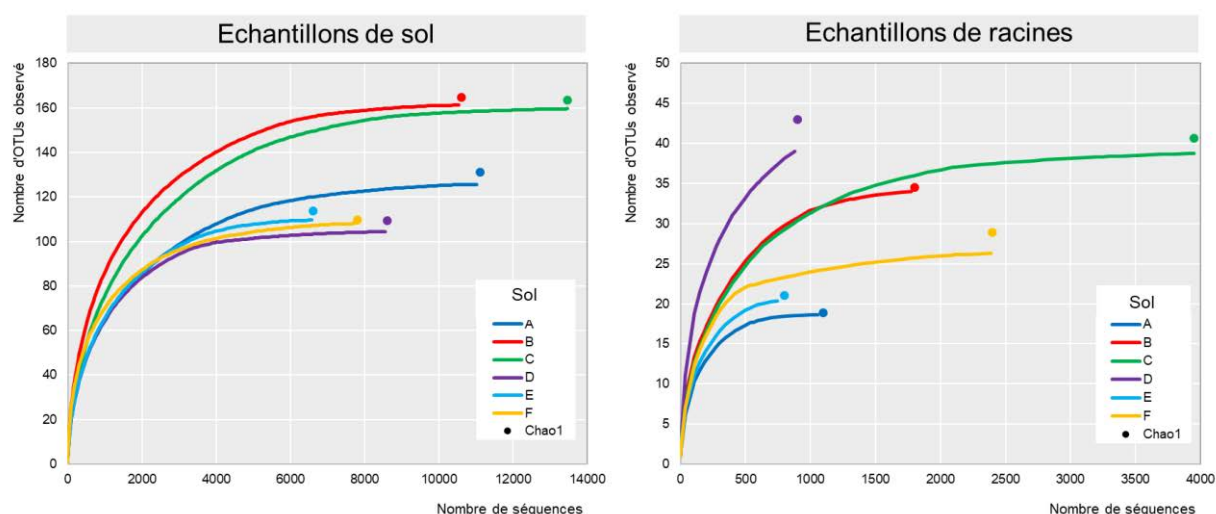


Figure 5.1 : Courbes de raréfaction moyennes et indices Chao1 moyens pour les six sols délaissés étudiés dans les échantillons de sol et de racines.

La moyenne du nombre d'OTUs fongiques dans les six sols étudiés est de 128 ± 28 dans les échantillons de sol et de 30 ± 9 dans les échantillons de racines. Seule l'équitabilité de la communauté fongique présente dans les échantillons de sol est différente en fonction du sol étudié (Tableau 5.2). Ainsi, l'équitabilité est significativement plus élevée dans le sol F par rapport aux sols A et D, mais reste tout de même loin de 1.

Tableau 5.2 : Indices de diversité taxonomique des communautés fongiques issues des échantillons de sols et de racines dans les six sols délaissés. *Moyenne±écart-type. ANOVA à 1 facteur suivie du test post-hoc HSD de Tukey pour les échantillons de sol avec n=5. Test de Kruskal-Wallis suivi du post-hoc de comparaison de rang avec n=3, n=2, n=4, n=1, n=3 et n=3 pour les racines des sols A, B, C, D, E et F respectivement. Des lettres différentes indiquent une différence significative avec P<0,05.*

Sols	Echantillons de sol				Echantillons de racines			
	Richesse		Equitabilité		Richesse		Equitabilité	
	Nombre d'OTU		Equitabilité de Pielou		Nombre d'OTU		Equitabilité de Pielou	
A	126±24	a	0,36±0,02	b	19±7	A	0,24±0,18	a
B	161±28	a	0,4±0,03	ab	34±7	A	0,34±0,06	a
C	160±47	a	0,39±0,02	ab	39±14	A	0,34±0,05	a
D	104±33	a	0,37±0,02	b	39	A	0,43	a
E	110±12	a	0,38±0,03	ab	20±8	A	0,39±0,01	a
F	108±15	a	0,43±0,04	a	26±9	A	0,27±0,04	a

III.1.2. Structure taxonomique des communautés fongiques

Dans les échantillons de sol et de racines, les ascomycètes représentent le phylum le plus diversifié comprenant six familles (les *Nectriaceae*, les *Herpotrichiellaceae*, les *Didymellaceae*, les *Helotiaceae* et les *Leptosphaeriaceae*) alors que les basidiomycètes sont représentés par deux familles (les *Pleurotaceae* et les *Tricholomataceae*) et que les mucoromycètes sont uniquement représentés par les *Mortierellaceae* (Mycobank Database, 2017) (Figure 5.2). Les autres familles représentent en cumulé et en moyenne 18±8% de la communauté.

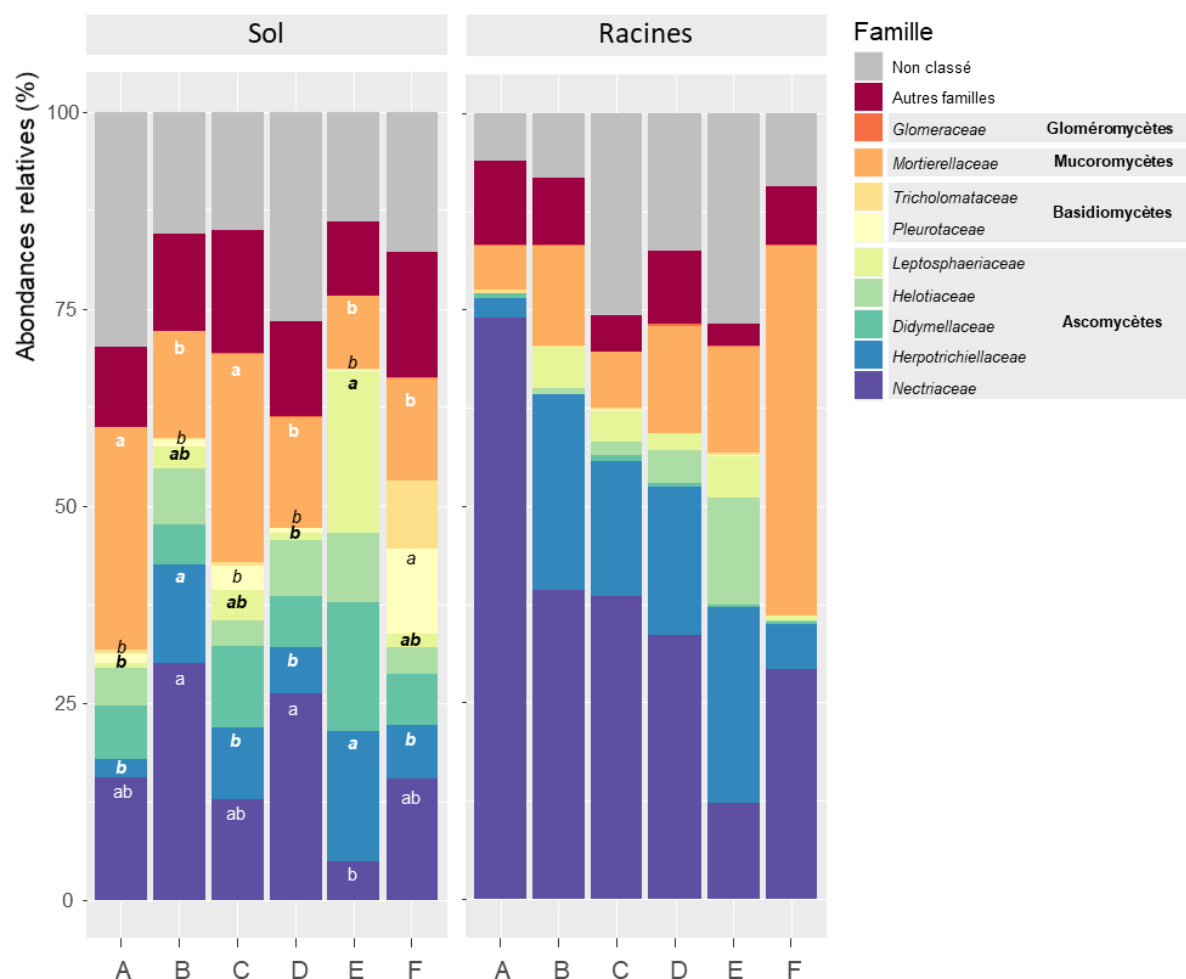


Figure 5.2 : Moyenne des abondances relatives des différentes familles fongiques mesurées dans les 6 sols délaissés. ANOVA à 1 facteur suivie du test post-hoc HSD de Tukey ($n=5$) pour les échantillons de sol. Test de Kruskal-Wallis suivi du test post-hoc de comparaison de rang pour les racines ($n=3$, $n=2$, $n=4$, $n=1$, $n=3$ et $n=3$ pour les sols A, B, C, D, E et F respectivement). Des lettres différentes indiquent une différence significative avec $P<0,05$. Autres familles : Agaricaceae; Agyriaceae; Ajellomycetaceae; Ambisporaceae; Amphispheariaceae; Amylocorticiaceae; Apiosporaceae; Ascobolaceae; Ascodesmidaceae; Auriculariaceae; Bionectriaceae; Boletaceae; Chaetomiaceae; Chaetothyriaceae; Clavicipitaceae; Coniochaetaceae; Coniophoraceae; Cordycipitaceae; Corticiaceae; Cryphonectriaceae; Cystofilobasidiaceae; Davidiellaceae; Debaryomycetaceae; Dipodascaceae; Diversisporaceae; Entolomataceae; Erysiphaceae; Ganodermataceae; Glomerellaceae; Helvellaceae; Hyaloscyphaceae; Hypocreaceae; Kickxellaceae; Lobariaceae; Lycoperdaceae; Lyophyllaceae; Magnaporthaceae; Marasmiaceae; Massariaceae; Agaricaceae; Monoblepharidaceae; Montagnulaceae; Morchellaceae; Mucoraceae; Mycosphaerellaceae; Myxotrichaceae; Omphalotaceae; Onygenaceae; Ophiocordycipitaceae; Ophiostomataceae; Orbiliaceae; Pezizaceae; Phaeosphaeriaceae; Phanerochaetaceae; Physodermataceae; Plectosphaerellaceae; Pleosporaceae; Pluteaceae; Pyronemataceae; Rhizophydiaceae; Sclerotiniaceae; Sebacinaceae; Serpulaceae; Shiraiaceae; Sordariaceae; Spizellomycetaceae; Stereocaulaceae; Strophariaceae; Taphrinaceae; Tapinellaceae; Teratosphaeriaceae; Testudinaceae; Tilletiariaceae; Tremellaceae; Trichocomaceae; Valsaceae; Verrucariaceae.

• Dans les échantillons de sol

Les ascomycètes représentent en moyenne $45\pm 14\%$ de la communauté totale dans les échantillons des six sols délaissés. Parmi les ascomycètes, les *Nectriaceae* sont significativement plus abondants dans les sols B et D par rapport au sol E. Les *Herpotrichiellaceae* sont

significativement plus abondants dans les sols B et E par rapport aux autres sols et les *Leptosphaeriaceae* sont significativement plus abondants dans le sol E par rapport aux sols A et D.

Les basidiomycètes représentent en moyenne $4\pm 8\%$ de la communauté totale dans les échantillons de sol et, leur pourcentage est significativement plus élevé dans le sol F ($19\pm 15\%$) comparé aux autres sols ($1,5\pm 1,3\%$ en moyenne dans les cinq autres sols). Parmi les basidiomycètes, les *Pleurotaceae* sont significativement plus abondants dans le sol F par rapport aux autres sols. Enfin, les *Mortierellaceae* sont significativement plus abondants dans les sols A et C par rapport aux sols B, D, E et F.

- **Dans les échantillons de racines**

Dans les racines, aucune différence significative n'est observée dans la composition taxonomique des communautés fongiques (Figure 5.2). Nous pouvons noter que les ascomycètes dominent les communautés fongiques racinaires ($65\pm 9\%$), sauf pour le sol F où les mucoromycètes (*Mortierellaceae* essentiellement) dominent ($47\pm 36\%$).

III.2. Diversité des communautés fongiques du sol et des racines selon l'approche trait

III.2.1. Indices de diversité des communautés fongiques selon le trait « mode trophique »

Les indices de diversité basée sur le trait « mode trophique » des communautés fongiques issues des échantillons de sol présentent des différences significatives entre les sols. Par contre, aucune différence n'est observée pour les communautés fongiques racinaires (Tableau 5.3). Ainsi, la diversité de Shannon est significativement plus faible dans le sol A par rapport aux sols B, C, D et F et l'équitabilité est significativement plus faible dans le sol A par rapport aux sols B et D.

Tableau 5.3 : Indices de diversité basée sur le trait « mode trophique » des communautés fongiques issues des échantillons de sol et de racines dans les six sols délaissés. *Moyenne±écart-type. Pour les échantillons de sol : ANOVA à 1 facteur suivie du test post-hoc HSD de Tukey pour l'indice de Shannon et test de Kruskal-Wallis suivi du test post-hoc de comparaison de rang pour l'indice d'équitabilité de Shannon, avec n=5. Pour les échantillons de racines : ANOVA à 1 facteur suivie du test post-hoc HSD de Tukey pour les deux indices, avec n=3, n=2, n=4, n=1, n=3 et n=3 pour les racines des sols A, B, C, D, E et F respectivement.*

Sols	Echantillons de sol		Echantillons de racines	
	Diversité fonctionnelle	Equitabilité	Diversité fonctionnelle	Equitabilité
	Indice de Shannon	Equitabilité de Shannon	Indice de Shannon	Equitabilité de Shannon
A	1,41±0,07 b	0,41±0,02 b	1,34±0,08 a	0,47±0,02 a
B	1,76±0,04 a	0,73±0,02 a	1,54±0,07 a	0,46±0,02 a
C	1,61±0,07 a	0,46±0,02 ab	1,53±0,21 a	0,47±0,03 a
D	1,64±0,1 a	0,69±0,04 a	1,79 a	0,56 a
E	1,56±0,08 ab	0,58±0,13 ab	1,09±0,35 a	0,39±0,16 a
F	1,62±0,15 a	0,47±0,04 ab	1,13±0,35 a	0,35±0,1 a

III.2.2. Structure des communautés fongiques du sol et des racines selon le trait « mode trophique »

Dans les échantillons de sols, les saprophytes représentent la majorité des communautés fongiques (45±9% en moyenne dans les six sols) et aucune différence significative n'est observée entre les sols (Figure 5.3). Parmi les champignons pathogènes (21±8% de la communauté dans les six sols), la proportion en champignons pathogènes pour les plantes est significativement plus élevée dans le sol E par rapport aux autres sols. La proportion en champignons endophytes est significativement plus élevée dans les sols B et E par rapport au sol A. Parmi les champignons symbiotiques (2±1% en moyenne dans les six sols), la proportion en champignons ectomycorhiziens est plus importante dans le sol B par rapport aux sols C, D et E. La proportion en champignons non-assignés à un mode trophique (22±12% en moyenne dans les six sols) est significativement plus élevée dans les sols A et F par rapport au sol E.

Dans les échantillons de racines, les saprophytes représentent la majorité (52±16% en moyenne dans les six sols) des communautés fongiques et aucune différence significative n'est observée entre les sols (Figure 5.3). Parmi les champignons pathogènes, représentant 23±14% en moyenne dans les six sols, aucune différence significative n'est observée entre les racines des six sols. Les champignons symbiotiques, représentant 1,0±0,6% en moyenne dans les six sols, ne sont pas significativement différents entre les sols. Par contre, la proportion d'endophytes, représentant 15±13% en moyenne dans les six sols, est significativement plus élevée dans les racines des sols B et E par rapport à celles des sols A, C et F.

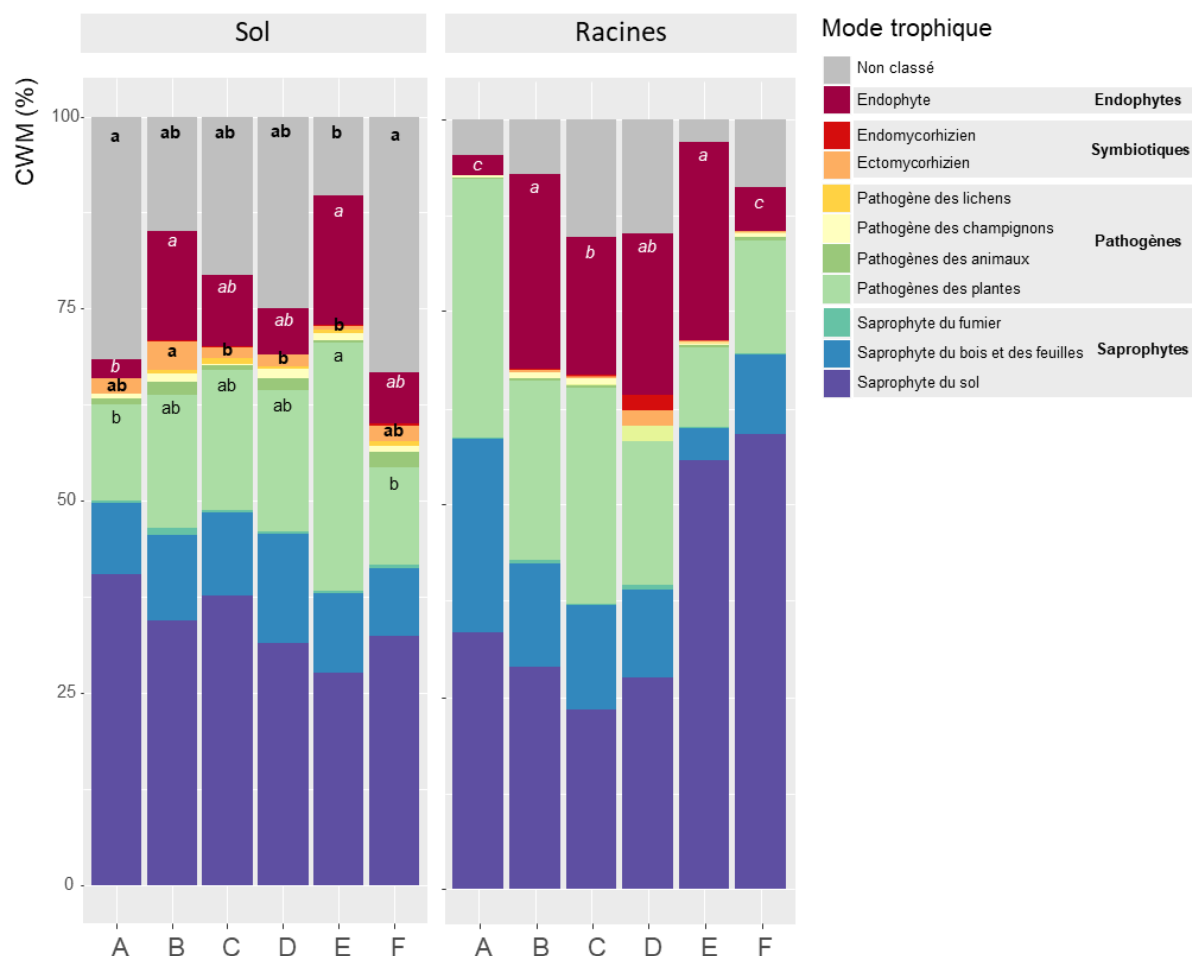


Figure 5.3 : CWM des différents attributs du trait « mode trophique » des champignons identifiés dans 6 sols délaissés. Pour les échantillons de sol : ANOVA à 1 facteur suivie du test post-hoc HSD de Tukey ou Test de Kruskal-Wallis suivi du test post-hoc de comparaison de rang, $n=5$. Pour les échantillons de racines : ANOVA à 1 facteur suivie du test post-hoc HSD de Tukey, $n=3$, $n=2$, $n=4$, $n=1$, $n=3$ et $n=3$ pour les sols A, B, C, D, E et F respectivement. Des lettres différentes indiquent une différence significative avec un $P < 0,05$.

III.3. Analyses RLQ des communautés fongiques du sol et des racines

La figure 5.4 illustre l'analyse RLQ avec la projection des coordonnées obtenues pour chaque point d'échantillonnage sur les deux composantes principales RLQ1 et RLQ2, pour les échantillons de sol (Figure 5.4.A), ainsi que la représentation des attributs du trait « mode trophique » associés aux paramètres abiotiques des sols (Figure 5.4.B). Les deux premiers axes représentent 88% de la variance totale des communautés fongiques (75 et 13%, respectivement). Le test de Monte-Carlo indique une co-variation significativement élevée ($P=0,001$) entre les variables abiotiques et les attributs du trait « mode trophique ». La projection des réplicats montre 3 sols discriminés entre eux : A, C, et E tandis que les sols B, D et F le sont moins. Une proportion élevée de

champignons saprophytes est associée à des teneurs élevées en MO, en K, en P et une CEC élevée, caractéristique du sol A. Une proportion élevée de champignons ectomycorhiziens est associée à des teneurs élevées en Ca et Mg ainsi qu'un C/N élevé.

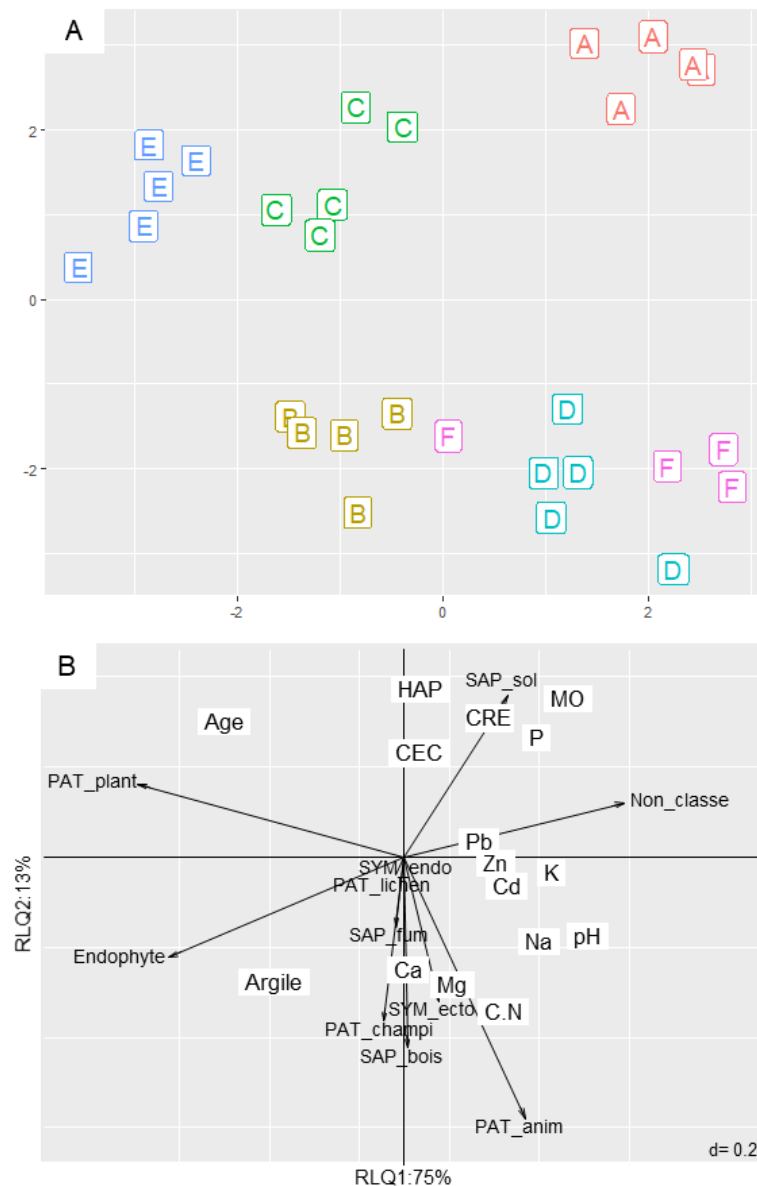


Figure 5.4 : Analyse RLQ des communautés fongiques issues des **échantillons de sols** (A : coordonnées des points d'échantillonnage ; B : représentation des variables abiotiques et des attributs du mode trophique). *Argile*=% d'argile; *P*=phosphore Olsen disponible; *MO*=matière organique; *CRE*=capacité de rétention en eau; *CEC*=capacité d'échange cationique; *C.N*=ratio carbone/azote; [Cations échangeables à la cobaltihexamine] *Ca*=calcium; *Na*=sodium; *K*=potassium; *Mg*=magnésium [Eléments extractibles] *Pb*=plomb; *Zn*=zinc; *Cd*=cadmium; *Age*=date à partir de laquelle la dernière action humaine a été répertoriée. Voir le tableau 5.2 pour la signification des attributs.

L'analyse RLQ des communautés fongiques issues des échantillons de racines n'est pas présentée car le test de permutation ne valide pas la co-variation entre les attributs du mode trophique et les paramètres abiotiques du sol (Test de Monte-Carlo ; $P=0,161$).

IV. DISCUSSION

IV.1. Structure taxonomique des communautés fongiques

IV.1.1. Une faible diversité taxonomique des communautés fongiques dans le sol et les racines des sols délaissés

La richesse moyenne en OTUs dans les échantillons des 6 sols délaissés est plus faible que celle mesurée dans des sols forestiers (380 ± 65 et 478 ± 20 nombre d'OTUs ; Siles et Margesin, 2016; Hui *et al.*, 2017), des sols de prairies (325 ± 40 OTUs différents ; Chen *et al.*, 2017), des sols agricoles (530 ± 215 OTUs différents ; Bai *et al.*, 2015), des sols urbains (630 ± 160 OTUs différents ; Hui *et al.*, 2017). Ces valeurs ont été aussi retrouvées dans des sols contaminés aux hydrocarbures (238 ; Covino *et al.*, 2016), mais aussi des sols contaminés par des ETM, notamment Pb, Cu, Zn et Cd (229 ± 31 OTUs différents ; Foulon *et al.*, 2016) ou Ni et Cu (399 nombre d'OTUs différents ; Narendrula-Kotha et Nkongolo, 2017) ou des sols multi-contaminés par des ETM et des HAP (418 ± 114 OTUs différents ; Bourceret *et al.*, 2016). Même si quelques études montrent des valeurs similaires à celles observées lors de ce travail (environ 110 OTU différents dans des sols de prairies ; Huhe *et al.*, 2017), la plupart des études mesure une biodiversité fongique plus élevée, comparée aux sols délaissés étudiés. Dans le chapitre 3, la richesse taxonomique fongique de ces six sols a été estimée par une technique d'empreinte moléculaire, la DGGE. Contrairement au séquençage, la DGGE avait montré une richesse taxonomique (nombre de ribotype) significativement plus élevée dans le sol C par rapport aux autres sols (Vincent *et al.*, 2018). La richesse taxonomique des micro-organismes est ainsi fortement dépendante de la technique employée (Osborn et Smith, 2005).

L'équitabilité taxonomique des communautés fongiques mesurée dans les différents sols délaissés sont semblables à des valeurs retrouvées dans des sols miniers (Narendrula-Kotha et Nkongolo, 2017) ou des sols urbains (Jumpponen *et al.*, 2010). Nous avons observé que l'équitabilité taxonomique des communautés fongiques est plus élevée dans le sol F que dans les autres. Une disponibilité élevée en nutriments augmente la dominance de certaines espèces comme les organismes copiotrophes, ce qui peut faire diminuer l'équitabilité (Hartmann *et al.*, 2015). A l'inverse, de faibles teneurs disponibles en nutriments dans le sol F, comparées aux sols A et D, pourrait empêcher la dominance de certaines espèces.

Dans les échantillons de racines des six sites délaissés, la richesse en OTUs est plus faible que les valeurs mesurées dans les racines de peupliers plantés dans un sol historiquement contaminé aux métaux lourds (110 ± 36 OTUs différents, Foulon *et al.* 2016), ou dans un sol agricole (170 ± 110

OTUs différents; Danielsen *et al.*, 2012). Une étude sur des racines de 24 astéracées montre également une richesse taxonomique des communautés fongiques racinaires plus élevée que dans les sols délaissés étudiés (65 ± 19 OTU différents, Wehner, 2013). Par contre des valeurs comparables à celle observées dans les sols délaissés ont été retrouvées pour des plantes herbacées provenant de prairies ($6,4 \pm 1,2$ OTUs; Gao et Yang, 2016). En effet, les sites délaissés étudiés semblent être proches de milieux du type « prairie ».

IV.1.2. Une structure taxonomique fongique majoritairement dominée par des ascomycètes

- **Dans les échantillons de sol**

Les communautés fongiques des sols délaissés étudiés sont majoritairement composées d'ascomycètes. C'est aussi le cas dans de nombreux autres sols, tels que les sols de prairies (respectivement 30, 65 et 40% de la communauté, Thomson *et al.*, 2015 ; Chen *et al.*, 2017 ; Egidi *et al.*, 2016), des sols agricoles (50 à 90% de la communauté fongique; Morrison-Whittle *et al.*, 2017; Zhou *et al.*, 2017), des sols urbains (75% dans les parcs urbains; Hui *et al.*, 2017). Les ascomycètes sont aussi dominants dans les sols contaminés par des ETM (60% dans des sols non cultivés ; Foulon *et al.*, 2016) ou multi-contaminés par des ETM et des HAP ($54 \pm 9\%$; Bourceret *et al.*, 2016). Ainsi, les ascomycètes dominent les communautés fongiques dans les sols délaissés comme dans la plupart des sols, exceptés les sols forestiers (Swift, 1982; Lauber *et al.*, 2008; Thomson *et al.*, 2015; Hui *et al.*, 2017). Ainsi, ces sols délaissés semblent caractéristiques des milieux ouverts (sauf pour le sol F).

Parmi ces ascomycètes, les *Nectriaceae* sont bien représentées dans ces sols délaissés, comme en milieu urbain (environ 10%, Jumpponen *et al.*, 2010), mais en proportion plus importante. De même, Panelli *et al.* (2017) observent de faibles proportions de *Nectriaceae* dans des sols agricoles (2 à 4% de la communauté fongique). Dans des sols contaminés, en revanche, cette famille des *Nectriaceae* n'a pas été retrouvée (Foulon *et al.*, 2016; Narendrula-Kotha et Nkongolo, 2017). Ainsi, cette proportion de *Nectriaceae* plus élevée pourrait caractériser les sols délaissés peu pollués. Par contre, nous observons une proportion élevée en *Herpotrichiellaceae*, qui sont peu retrouvés dans des sols de prairie par exemple ($< 1\%$ de la communauté ; Keiser *et al.*, 2011), mais pourraient être un indicateur de la présence de contamination métallique (Narendrula-Kotha et Nkongolo, 2017). Toutefois, la contamination métallique n'explique pas totalement les fortes proportions en *Herpotrichiellaceae* dans les sols B et E car le sol B est exempt de contamination métallique.

L'abondance relative des basidiomycètes, souvent dominants dans les sols forestiers (environ 40% de la communauté, Thomson *et al.*, 2015), est faible dans les sols délaissés étudiés. Elle est aussi faible dans les sols agricoles, avec seulement 10% de la communauté représentée par des basidiomycètes (Morrison-Whittle *et al.*, 2017). Les basidiomycètes sont plutôt inféodés aux milieux arborés, et adaptés à des milieux avec un C:N faible et composés de molécules récalcitrantes comme la lignine (Thomson *et al.*, 2015), ce qui n'était pas le cas de la plupart des sites délaissés étudiés. Cela montre de nouveau que ces sols délaissés semblent caractéristiques des milieux ouverts, sauf le sol F. Seul le sol F est planté de ligneux, ce qui peut expliquer la proportion plus élevée en basidiomycètes dans ce sol par rapport aux autres. Une dominance des communautés par les basidiomycètes a également été observée dans un sol historiquement contaminé par des métaux lourds (Cd, Zn et Pb) et planté avec du peuplier (55 et 60% en moyenne de la communauté fongique ; Hui *et al.*, 2017). De plus, les basidiomycètes sont dominants dans des sols fréquemment perturbés, comparés aux ascomycètes (Cho *et al.*, 2017). Parmi les quatre points de prélèvements réalisés pour le sol F, trois d'entre eux présentent à la fois une plus forte concentration en ETM et une plus forte proportion en basidiomycètes (données non présentées), ce qui pourrait suggérer un lien entre ces paramètres.

Dans les six sols délaissés étudiés, les *Pleurotaceae* sont principalement composés de *Pleurotus sp.* et de taxa non assignés jusqu'au genre. Les *Pleurotus sp.* sont des taxa retrouvés dans des sols industriels, par exemple issus de fonderies, et contaminés par des ETM (Kapahi et Sachdeva, 2017) et peuvent accumuler ces contaminants, notamment le Cu, Fe, Zn et Mn (Boamponsem *et al.* 2013). La contamination en ETM du sol F pourrait ainsi contribuer à expliquer la présence d'une abondance relative de *Pleurotaceae* élevée dans ce sol par rapport aux autres.

Les six sols délaissés présentent une abondance relative de la famille des *Mortierellaceae* (9 à 28% de la communauté fongique) plus élevée par rapport à des sols agricoles (10% des communautés, Detheridge *et al.* 2016 ; Bainard *et al.* 2017 ; Panelli *et al.* 2017), ou à un ancien sol cultivé recolonisé par une végétation spontanée (environ 15%, Strickland *et al.*, 2017). Des *Mortierellaceae* ont également été trouvés en milieu urbain mais à de faibles proportions (<1% de la communauté fongique; Jumpponen *et al.*, 2010). Dans notre étude, une corrélation entre la proportion de *Mortierellaceae* et la teneur en MO est observée ($R^2=0,50$; $P=0,01$). Comme les *Mortierellaceae* sont des saprophytes, ils sont fortement liés à la présence de MO, ce qui peut expliquer les plus fortes abondances en *Mortierellaceae* retrouvées dans les sols A et C, que dans les autres.

Les glomérormycètes sont peu représentés dans les sols délaissés étudiés, comme c'est généralement le cas dans les autres sols (entre 0,4 et 1% de la communauté fongique), qu'ils s'agissent de sols de prairies, de sols forestiers, de sols multicontaminés ou de sols urbains

(O'Brien *et al.*, 2005; Jumpponen *et al.*, 2010; Tedersoo *et al.*, 2014; Bourceret *et al.*, 2016). Toutefois ces champignons symbiotiques pourraient être davantage présents dans les racines.

Les proportions en OTUs du genre *Glomus*, renommé *Rhizophagus*, dans les échantillons de sol sont significativement plus importantes dans les deux échantillons du sol F prélevés sur les parcelles ayant reçu un inoculum fongique (*Rhizophagus irregularis*) par rapport aux autres échantillons (en moyenne, 2,6‰ dans les deux points de prélèvements inoculés par rapport à 0,2‰ ; $P=0,01$, test de Wilcoxon-Mann-Whitney). Ceci montre que l'inoculation a augmenté la proportion de *Rhizophagus* dans ces parcelles de sol construit, même si ces champignons ont une faible abondance relative. Par contre, nous notons qu'aucun *Sclerodermataceae* n'a été détecté dans les sols inoculés avec *Pisolithus tinctorius* (qui appartient à la famille *Sclerodermataceae*).

Lorsque l'on étudie la structure relative des communautés, il est difficile de savoir si l'abondance de certains taxons (*Nectriaceae*, *Herpotrichiellaceae* et *Mortierellaceae* par exemple) est plus importante dans ces sols délaissés par rapport à d'autres sols, ou si c'est l'absence de certains taxons qui fait augmenter mathématiquement la proportion des autres. Ceci complexifie l'interprétation des résultats et nous limite à des observations relatives.

• Dans les échantillons de racines

Comme pour les échantillons de sol, les communautés fongiques issues des échantillons de racines de sols délaissés sont dominées par les ascomycètes sauf pour le sol F. Ces proportions en ascomycètes dans les racines sont plus élevées que des valeurs retrouvées dans des racines d'astéracées récoltées dans des sols prairiaux (36% ; Wehner, 2013). En revanche, dans un sol contaminé en ETM, la diversité fongique dans des racines d'*Arrhenatherum elatius* (poacée) était aussi majoritairement représentée par les ascomycètes (Vandenkoornhuyse *et al.*, 2002).

Une faible proportion en gloméromycètes a été retrouvée dans les racines des 6 sols délaissés lors du séquençage (entre 0 et 0,5% en moyenne). D'autres auteurs ont aussi observé une faible abondance relative des gloméromycètes dans les racines (entre 0,5 et 3% de la communauté fongique) (Detheridge *et al.*, 2016; Foulon *et al.*, 2016), ou une proportion un peu plus élevée de ces champignons dans des racines d'astéracées (7% de la communauté fongique ; Wehner, 2013). Cette faible abondance relative des gloméromycètes dans des racines apparemment bien colonisées est surprenante. En effet, une forte colonisation des racines par des champignons mycorhiziens à arbuscules a été observée par la coloration des racines et leur observation microscopique (80% de fréquence de mycorhization dans le système racinaire) (Chapitre 3 ; Vincent *et al.*, 2018). Ainsi, nous avons vérifié que les amorces utilisées lors des PCR s'hybridaient correctement à la séquence 18S des gloméromycètes. Un test de complémentarité de séquence a

été réalisé sur la séquence de *Rhizophagus intraradices* montrant une seule inadéquation de base pour l'amorce FF390R. Ensuite, il est possible que des hyphes fongiques appartenant à d'autres taxa soient présents sur les racines, faisant baisser la proportion en glomérormycètes, ou que les parties racinaires soient colonisés de manière hétérogène par les champignons MA. De plus, on peut aussi souligner que le séquençage possède des biais parfois importants. Comme l'ont récemment montré Takahashi *et al.* (2017), le séquençage ne permet pas d'estimer parfaitement les proportions taxonomiques des communautés microbiennes. En effet, après inoculation de différentes souches fongiques dans un milieu de culture, la quantification par qPCR de ces souches donnait des résultats différents de ceux obtenus par séquençage.

Nous soulignons qu'aucun *Sclerodermataceae* n'a été détecté dans les échantillons de racines provenant des sols inoculés avec le champignon endomycorhizien *Pisolithus tinctorius* (qui appartient à la famille *Sclerodermataceae*).

IV.2. Structure des communautés fongiques selon le trait « mode trophique »

IV.2.1. La diversité des modes trophiques des communautés fongiques diffère entre les sols délaissés

Une plus faible diversité de modes trophiques des communautés fongiques est constatée dans les échantillons du sol A par rapport aux autres sols. Celle-ci pourrait être liée à la plus faible diversité végétale dans ce sol délaissé, qui pourrait limiter à la fois la diversité des champignons saprophytes, des pathogènes de plantes, des symbiotiques et des endophytes. Selon Asgharipour et Rafiei (2011), une plus grande diversité des ressources augmenterait la diversité catabolique, et pourrait ainsi affecter les modes trophiques. De plus, la faible équitabilité en terme de mode trophique des communautés fongiques mesurée dans le sol A pourrait être expliquée par la faible équitabilité taxonomique également observée dans ce sol.

IV.2.2. Une structure des communautés fongiques basée sur le trait « mode trophique » similaire à d'autres sols

- **Dans les échantillons de sol**

Dans les échantillons de sols, la structure des communautés fongiques basée sur le trait « mode trophique » est proche de celles observées par Danielsen *et al.* (2012) dans un sol agricole ou Tedersoo *et al.* (2014) dans des sols de prairie. En effet, ces auteurs observent environ 45% de saprophytes, 20% de pathogènes et 8% d'endophytes. Toutefois, Danielsen *et al.* (2012), observent une proportion de champignons symbiotiques plus importante (25%, dont 23% d'ectomycorhiziens) que dans les sols délaissés étudiés, probablement en lien avec la culture de ligneux sur les sols agricoles étudiés par ces auteurs. De fortes proportions en champignons ectomycorhiziens ont été observées dans des sols forestiers (30 à 50% de la communauté fongique; Toju *et al.* 2016; Strickland *et al.* 2017). Comme dans la plupart des sols, le mode trophique dominant dans les six sols délaissés étudiés sont les saprophytes (Danielsen *et al.*, 2012; Tedersoo *et al.*, 2014; Foulon *et al.*, 2016; Strickland *et al.*, 2017). Cette forte proportion de saprophytes est liée à l'abondance des *Mortierellaceae* (Hibbett *et al.*, 2007), comme l'ont observé Danielsen *et al.* (2012) dans des sols agricoles.

Les fortes abondances en endophytes (dues à la présence de *Capronia sp.*) observées dans les sols B et E pourraient être liées aux faibles teneurs en MO, comme l'ont montré Regvar *et al.* (2010) pour les *Dark Septate Endophyte* (DSE) dans des racines de peupliers. Pourtant, le sol F, pauvre en MO, présente une faible densité en endophytes. La présence de contaminants pourrait contribuer à expliquer cette faible densité en endophytes dans le sol F. Toutefois, de nombreux auteurs ont aussi montré que les endophytes peuvent être tolérants aux ETM (Zhang *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2012; Berthelot *et al.*, 2016) et que leur densité pouvait même augmenter lors d'une contamination métallique (Regvar *et al.*, 2010).

Les champignons ectomycorhiziens présents dans les sols délaissés étudiés sont représentés par de nombreux taxa différents (*e.g.* *Tricholoma sp.*, *Otidea sp.* et *Cenococcum sp.*) mais sont peu nombreux, probablement dû à l'absence d'arbres le long du transect de prélèvement. Toutefois, sur le sol F, la présence de peuplier n'augmente pas la proportion en champignons ectomycorhiziens. Certaines études montrent que la densité en champignons ectomycorhiziens peut être accrue par une carence en phosphore disponible (Wallander et Nylund, 1992; Aquino et Plassard, 2004). Ainsi, la densité élevée en champignons ectomycorhiziens observée dans le sol B pourrait être due à une faible concentration en phosphore disponible dans ce sol (25±17 dans le sol B comparé à 45±10 mg.P_{disponible}.kg⁻¹ en moyenne dans les autres sols).

Le champignon ectomycorhizien inoculé dans deux des quatre points de prélèvements du sol F n'a été observé dans aucun des échantillons de racines analysées, car les mesures ont peut-être été faites sur des racines d'herbacées et pas seulement sur des racines d'arbres, ou que son abondance était inférieure à la limite de quantification.

Dans les six sols délaissés, l'abondance des champignons pathogènes n'est ni faible ni élevée dans les sols étudiés en comparaison avec la littérature. En effet, l'analyse de la littérature montre des proportions variables de champignons pathogènes dans des sols agricoles (de 20% de la communauté fongique selon Benitez *et al.* (2016), à environ 50% selon Bainard *et al.* (2017)), ou d'anciens sols cultivés, spontanément recolonisés (8% de la communauté fongique ; Strickland *et al.*, 2017). Dans notre étude, les champignons pathogènes sont majoritairement des pathogènes de plantes, comme dans la plupart des sols (*e.g.* Tedersoo *et al.*, 2014; Benitez *et al.*, 2016). Premièrement, les communautés de champignons pathogènes de plantes sont influencées par divers paramètres abiotiques du sol comme la teneur en azote totale, la CEC, le pH (Agtmaal *et al.*, 2017) et le C/N (Kühn *et al.*, 2009). La forte proportion en champignons pathogènes de plantes dans le sol E pourrait s'expliquer par le faible ratio C/N de ce sol (significativement plus faible par rapport aux autres sols), comme l'ont montré Kühn *et al.* (2009). De plus, la présence de champignons mycorhiziens diminuerait l'installation des champignons pathogènes de plantes (Garbeva *et al.*, 2004; Penton *et al.*, 2014). Ainsi, nous observons une relation logarithmique négative entre la proportion de champignons pathogènes de plantes et la proportion de champignons symbiotiques ($P=0,005$; $R^2=0,25$) (résultat non présenté). Toutefois, cette relation n'a pas été observée dans les racines comme le supposait Detheridge *et al.* (2016). Enfin, la plus faible proportion de champignons pathogènes de plantes dans le sol F pourrait être liée à la présence des ligneux (Strickland *et al.*, 2017).

- **Dans les échantillons de racines**

Comme dans les échantillons de sols, les échantillons de racines provenant des sols B et E ont des proportions en endophytes plus importantes que les autres sols délaissés. Ainsi, les endophytes sont présents en même proportion dans le sol et les racines. Dans des racines de peupliers cultivés sur un sol non contaminé, des proportions en champignons saprophytes comparables à nos observations (60%) ont été trouvées (Foulon *et al.*, 2016). Par contre, les proportions en champignons pathogènes (14%) et endophytes (1%) étaient plus faibles. Il est possible que les proportions de champignons dépendants des plantes (*e.g.* les pathogènes des plantes, les endophytes et symbiotiques) soient différents de notre étude car leurs racines proviennent d'arbres alors que nos observations se sont peut-être basées sur des racines de plantes herbacées.

De façon générale, la structure fonctionnelle des communautés fongiques issues des échantillons de racines est comparable à celle observée dans les échantillons de sol.

IV.4. Le mode trophique des champignons du sol est lié à la fertilité des sols délaissés

La présence de compost dans le sol A pourrait expliquer les conditions favorables à la présence de champignons saprophytes par sa forte teneur en MO, en P avec une CEC élevée (Séré, 2007). L'analyse RLQ a montré qu'une proportion élevée en champignons saprophytes était associée à de fortes teneurs en MO (Hršelová *et al.*, 1999; You *et al.*, 2014), en P disponible, caractéristique du sol A. Les champignons saprophytes représentent un des modes trophiques les plus actifs pour dégrader les MO et sont donc fortement liés au cycle du carbone (Nichols et Wright, 2004). L'abondance de ces champignons augmente lorsque les concentrations en carbone organique augmentent (Manns *et al.*, 2007). Dans le chapitre 3, nous avons montré que le sol A présentait les activités potentielles de minéralisation les plus élevées parmi les six sols délaissés (mesures d'activités enzymatiques et de respiration; Vincent *et al.*, 2018), ce qui est en accord avec les résultats observés ici.

De plus, les molécules composant la MO dans les sols délaissés, certaines sont d'origine anthropique comme les HAP. Ces HAP peuvent également être une source de carbone pour certains champignons saprophytes, par leurs activités lignolytiques ou non-lignolytiques (Boonchan *et al.*, 2000), ce qui pourrait expliquer le fait que de fortes proportions en saprophytes du sol soient associées à des teneurs plus élevées en HAP. Enfin, les micro-organismes font partie intégrante de la MO. Ainsi, ce n'est peut-être pas la MO qui augmente la présence de champignons saprophytes mais la présence des champignons qui augmente la quantité de MO. En effet, il a été montré que la présence de champignons saprophytes augmente les valeurs de MO, notamment dans des sols peu fertiles (Rashid *et al.*, 2016).

L'abondance en champignons saprophytes a été également montrée comme corrélée avec les teneurs en phosphore disponible du sol (Hršelová *et al.*, 1999). En effet, les teneurs en phosphore disponible peuvent modifier la densité en champignons saprophytes (Pesakovic *et al.*, 2010), et la présence de champignons saprophytes peut également augmenter la disponibilité du phosphore (Whitelaw, 2000), grâce à leurs activités enzymatiques comme la phosphatase (Van Aarle *et al.*, 2001), notamment dans des sols dégradés (Rashid *et al.*, 2016).

Dans les sols délaissés étudiés, la structure des communautés des champignons ectomycorhiziens est influencée par certains paramètres abiotiques, comme la concentration en cations basiques. Pölme *et al.* (2013) ont montré une corrélation entre la teneur en Ca dans le sol et la richesse en

ectomycorhizes, car Ca, mais également Mg, peuvent être limitants pour ces champignons (Gryndler *et al.*, 2017). Comme dans les sols délaissés étudiés, Tedersoo *et al.* (2014) montrent également une relation positive entre le C/N et la proportion en champignons ectomycorhiziens, pour tous types d'écosystèmes confondus. C'est également le cas de Wubet *et al.* (2012) dans des sols forestiers.

Nous n'observons pas de lien entre la structure des communautés fongiques dans les racines selon le mode trophique et les paramètres abiotiques des sols. Cependant, il est possible que ce soient plutôt les paramètres abiotiques du sol rhizosphérique qui conditionnent la structure des communautés fongiques racinaires (Costa *et al.*, 2006; Broeckling *et al.*, 2008). De plus, la diversité végétale pourrait également conditionner la structure des communautés fongiques (Shann *et al.*, 1994; Berg et Smalla, 2009). Enfin, la mesure des communautés fongiques racinaires dans cette étude a été réalisée dans un pool de racines provenant de différentes plantes herbacées, ce qui a peut-être masqué les différences entre sols.

IV.3. La base de données FUNGuild : une approche des traits fongiques à développer

Comme nous l'avons vu précédemment, la base de données FUNGuild permet d'attribuer un « mode trophique » à chaque taxon fongique identifié. Il faut cependant noter que ces attributions peuvent être discutées et l'utilisation de la base demeure perfectible. En effet, dans la base de données, les champignons endophytes sont considérés comme des champignons symbiotiques. Pourtant, ces champignons ne sont pas des champignons symbiotiques *stricto sensu*. Les champignons endophytes ont une interaction de type mutualiste avec la plante hôte car celle-ci ne reçoit pas de nutriments du champignon, contrairement aux relations qu'elle entretient avec les champignons mycorhiziens (Andrade-linares et Patterns, 2013; Chadha *et al.*, 2014). Ainsi, une modification des principaux modes trophiques serait pertinente et permettrait une meilleure affiliation.

Des auteurs utilisant la base de données FUNGuild avaient souligné le fait que certains champignons affiliés comme pathogènes étaient également saprophytes, nécessitant donc des corrections dans la base de donnée. Cela a été le cas pour le genre *Fusarium* (Cho *et al.*, 2017) et l'erreur a été corrigée. Par contre, *Capronia sp.*, qui est classé comme un champignon endophyte strict dans la base de données FUNGuild, pourrait être également mycorhizien. En effet, selon Allen *et al.*, (2003), certaines espèces de *Capronia sp.* pourraient avoir un mode trophique du type mycorhizien éricoïde. Ces auteurs précisent toutefois que des tests complémentaires sont

nécessaires pour valider leurs observations. De plus, d'autres auteurs suggèrent que *Capronia sp.* pourrait être également un champignon pathogène (Hamonts *et al.*, 2017).

Une autre limite de la base de FUNGuild concerne l'affiliation des différents attributs à un taxon. Tout d'abord, comme pour l'affiliation taxonomique des OTUs, l'affiliation de tous les taxons à un mode trophique est limitée par les données présentes dans la base. Ainsi, la base de données nécessite d'être amendée, ce qui a déjà été le cas depuis sa création mais cela mérite d'être poursuivi. De plus, nous avons estimé, par défaut, que la valeur de l'attribut (en pourcent) correspondait à « 100/(nombre d'attributs différents possibles pour le taxon considéré) ». Par exemple, *Alternaria spp.* est majoritairement saprophyte mais peut devenir pathogène (Thomma, 2003) ; il serait donc considéré comme 50% saprophyte et 50% pathogène. Afin d'être plus précis, il pourrait être intéressant de définir à quel pourcentage chaque champignon est symbiotique, endophyte, pathogène et/ou saprophyte, grâce à une analyse de la littérature. Par exemple, *Alternaria spp.* pourrait être à 80% saprophyte car il s'agit de son mode trophique majoritaire et 20% pathogène (Thomma, 2003). Toutefois, la littérature manque encore de données suffisantes. De plus, le changement d'un mode trophique à un autre est flou et dépend de nombreux facteurs, notamment de l'hôte et des conditions abiotiques (Tekaia et Latgé, 2005; Mandyam et Jumpponen, 2015).

V. CONCLUSION

Les sols délaissés étudiés semblent abriter des phylums fongiques retrouvés dans des milieux ouverts, avec une dominance d'ascomycètes, notamment dans les sols A, B, C, D et E, tandis que la présence de peupliers sur le site F induit une augmentation significative des basidiomycètes. Le sol F présente une proportion élevée en basidiomycètes, notamment en *Pleurotus*, pouvant être indicateur de la présence de ligneux et d'une contamination sur ce sol. Plusieurs familles de champignons identifiées dans ces sols délaissés ont été retrouvées dans des sols contaminés, urbains, agricoles et de prairies, mais leur abondance relative est plus élevée ou plus faible dans les sols délaissés étudiés.

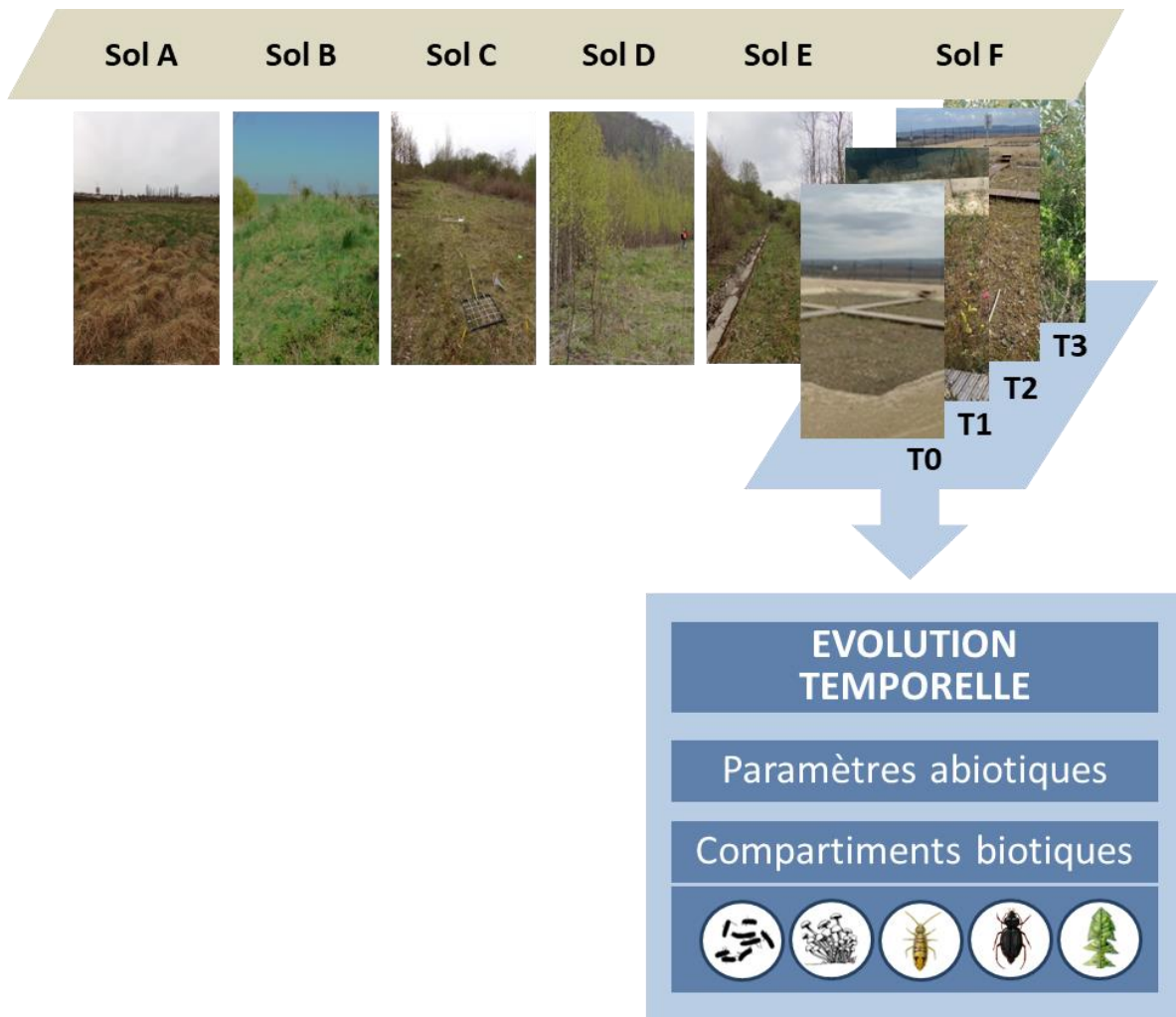
Les sols délaissés étudiés abritent des communautés fongiques ayant des modes trophiques proches de sols agricoles, prairiaux ou forestiers. La principale différence concerne les champignons ectomycorhiziens, qui ont des proportions plus faibles dans les sols délaissés étudiés que la plupart des sols, probablement dues à l'absence de ligneux dans ces sols. Par contre, bien que le sol F ait été planté avec des peupliers, il ne présente pas une proportion en

champignons ectomycorhiziens plus élevé. Les peupliers n'étaient peut-être pas assez développés pour observer une augmentation de la densité en champignons ectomycorhiziens. De plus, la structure des communautés fongiques basée sur le mode trophique présente dans les racines est comparable à celle des communautés fongiques dans les échantillons de sol.

De fortes teneurs en MO, en P et une forte CEC semblent favoriser l'abondance en champignons saprophytes. Dans le sol A, ces conditions sont particulièrement favorables, car un horizon de ce sol a été construit avec du compost. Les structures taxonomiques fongiques racinaires sont peu différentes entre les sols car ne semblent pas être directement liées aux conditions abiotiques des sols. La couverture végétale et les conditions abiotiques rhizosphériques pourraient être les facteurs modifiant les communautés fongiques racinaires. Afin d'avoir une vision plus intégrative des sols délaissés, il serait pertinent de mettre en relation ces différents résultats avec d'autres paramètres biotiques.

Chapitre 6 :

Suivi temporel des paramètres abiotiques et biotiques dans quatre modalités d'un Technosol construit



Après un traitement de remédiation de la pollution, ou lorsque les sols sont peu ou pas contaminés, la re-fonctionnalisation de ces sols peut être facilitée par des amendements. Parmi ces techniques, la « construction de sol », à partir de différents matériaux, déchets ou terres décontaminées, a été proposée comme une technologie innovante et prometteuse pour construire un sol fonctionnel. Dans un contexte de raréfaction des ressources, les matériaux considérés comme des déchets peuvent devenir de nouvelles ressources et être utilisés dans la construction de sols appelés Technosol. C'est dans ce cadre-là que le Technosol (nommé « sol F » dans ce travail de thèse) a été construit.

Nous avons montré dans les chapitres 3, 4 et 5 que le sol F semble être le sol ayant le fonctionnement le plus réduit par rapport aux autres sols et où des espèces particulières sont sélectionnées, notamment pour les collemboles et les champignons. Dans le cadre de ce chapitre de thèse, nous avons donc cherché à caractériser plus précisément ce Technosol qui semble être le plus anthropisé des sols délaissés étudiés. L'objectif de ce chapitre était ainsi d'étudier les paramètres abiotiques et biotiques de ce Technosol construit et leur dynamique au cours du temps, selon différentes modalités.

Le Technosol étudié dans ce chapitre a été construit à partir de terre contaminée par des hydrocarbures traitée par bioremédiation (biopile) et a été construit selon quatre modalités différentes. Une des modalités, exclusivement composée de terre de biopile, n'a subi aucun apport. Dans les autres modalités, un apport de boues industrielles, une inoculation par des champignons mycorhiziens, ou un apport de biochar ont été réalisés. Des échantillons de terre et du biota ont été prélevés à 1, 16, 22 et 28 mois après la construction du Technosol. L'analyse des paramètres physico-chimiques a été réalisée de sorte à évaluer la fertilité et la concentration en contaminants métalliques des terres. L'analyse des paramètres biotiques a porté sur la densité et/ou la richesse taxonomique des communautés bactériennes, fongiques, de la méso- et macrofaune ainsi que la flore. L'activité microbienne globale a également été mesurée.

Les paramètres abiotiques du Technosol sont différents en fonctions des modalités. En effet, l'amendement en boues a apporté de nombreux cations basiques, des ETM et de la MO avec une diminution du pH. L'apport du biochar a augmenté la teneur en MO par sa nature chimique et également les concentrations en cations et ETM par son fort pouvoir adsorbant notamment. Toutefois, les cations basiques sont rapidement lessivés, dès les 16 premiers mois. Un lessivage du phosphore est également observable dans la modalité sans boue. Un phénomène de lessivage est observé pour le Zn et le Cd, mais le phénomène est beaucoup plus lent, montrant une plus faible mobilisation de ces métaux. Bien que les conditions abiotiques du Technosol soient très contrastées, les paramètres biotiques sont peu différents entre les modalités, exceptée l'activité

globale microbienne qui est diminuée en présence de boues et de biochar. Les paramètres biotiques semblent être davantage dépendant du temps (colonisation, effet saisonnier et inondations des parcelles) et peu influencés par l'apport de boues et de biochar. Les organismes colonisent rapidement le Technosol, entre 1 et 16 mois en fonction du groupe biotique. Malgré un niveau de fertilité faible (avec des carences ou des excès d'éléments minéraux ou organiques) et une contamination métallique dans les modalités présentant des boues, une colonisation rapide par les organismes a été observée, qui conduit à une biodiversité comparable à celle des sols agricoles, environ 2 ans après la construction du Technosol.

Suivi temporel des paramètres abiotiques et biotiques dans quatre modalités d'un Technosol construit

I. INTRODUCTION

L'utilisation intensive des sols, liée aux activités humaines (agricoles, industrielles et urbaines) a fortement dégradé la ressource mondiale en sol, qui est devenue un des problèmes socio-économiques et environnementaux majeurs (FAO, 2005; GEF, 2006). En effet, le sol est une ressource fragile, considérée comme non renouvelable et une altération de la qualité du sol peut provoquer une diminution de sa capacité à assurer des services écosystémiques, tels que la production de biomasse végétale, la fonction de filtre et le support de biodiversité (Scherr, 1999; Jie *et al.*, 2002; Pascual *et al.*, 2015). Suite à la déprise industrielle, certaines régions présentent des surfaces considérables de sols délaissés, c'est à dire qui n'ont pas d'usage, en raison de leur contamination, de leur faible fertilité (Wong et Bradshaw, 2002), du coût associé à leur réhabilitation et/ou de l'absence de pression socio-économique (Pillot, 2015).

Afin de restaurer les fonctions de ces sols délaissés, et d'envisager des usages, différentes stratégies de remédiation et de restauration peuvent être entreprises. Lorsque ces sols sont fortement contaminés, des techniques de remédiation, physique, chimiques ou biologiques (ADEME, 2009) doivent être appliquées au préalable. Après un traitement de remédiation de la pollution, ou lorsque les sols sont peu ou pas contaminés, la re-fonctionnalisation de ces sols peut être facilitée par des amendements (Vangronsveld *et al.*, 1995). Parmi ces techniques, la « construction de sol », à partir de différents matériaux, déchets non toxiques ou terres décontaminées, a été proposée comme une technologie innovante et prometteuse pour construire un sol fonctionnel (Séré *et al.*, 2008). Ces Technosols construits (Lehmann, 2014) redonnent au sol certaines propriétés agronomiques et permettent une implantation optimale et pérenne de la végétation. Dans un contexte de raréfaction des ressources, les matériaux considérés comme des déchets peuvent ainsi devenir de nouvelles ressources et être utilisés dans la construction de sols. Parmi ces déchets, les sous-produits industriels offrent un intérêt particulier en raison de leur potentiel agronomique et de leur faible coût (Vetterlein et Hüttnl 1999). Dans cette optique, plusieurs études ont démontré les effets bénéfiques de l'utilisation des déchets et des sous-produits urbains, tels que le compost (Ok *et al.* 2011; Lim *et al.* 2012), le biochar (Janus *et al.*,

2015) ou les granulats (Rosenbaum *et al.*, 2003; Rao *et al.*, 2007), sur les propriétés chimiques physiques et biologiques (Séré *et al.*, 2008; Agegnehu *et al.*, 2017; Kataki *et al.*, 2017). Afin de favoriser la réhabilitation de Technosols (construits ou non), de nombreuses études ont démontré les effets bénéfiques de l'inoculation de micro-organismes, pour améliorer la croissance végétale notamment (Sheoran *et al.*, 2010). Associée à des plantes cultivées, l'inoculation de souches microbiennes est souvent utilisée comme technique de bio-remédiation des Technosols contaminés (Meier *et al.*, 2012; Khan *et al.*, 2013; Tobergte et Curtis, 2013; Ahemad, 2014).

Il est de plus en plus admis qu'un sol peut-être multifonctionnel (Hodobod *et al.*, 2016) et que la biodiversité (Swift *et al.*, 2004; Wagg *et al.*, 2014) est essentielle au fonctionnement pérenne des sols car joue de nombreux rôles dans l'écosystème. En effet, si la structure des communautés (*e.g.* bactériennes, fongiques, de la méso- et de la macrofaune) sont impactées, c'est tout le fonctionnement de l'écosystème qui peut être affecté (Cébron *et al.*, 2011). Pourtant, les études prenant en compte la biodiversité dans les Technosols construits sont limitées et se restreignent à un ou deux compartiments biotiques (collembolles, Schrader et Bo, 2006; microorganismes, Hafeez *et al.*, 2012; lombrics et plantes, Deeb *et al.*, 2016; lombrics et fourmis, Vergnes *et al.*, 2017). Il est donc essentiel de prendre en compte l'ensemble de la biodiversité dans les Technosols pour évaluer au mieux leurs fonctionnements.

Les propriétés des Technosols construits dépendent fortement des caractéristiques des matériaux utilisés pour les construire (Huot *et al.* 2013; Rokia *et al.* 2014). Ainsi, la formulation des matériaux joue un rôle majeur sur les contraintes d'habitat pour les organismes vivants, affectant directement leur installation. Par exemple, Pey (2010) a montré que les collembolles et la macrofaune n'ont pas les mêmes densités et diversités en fonction du type de matériaux utilisé dans les Technosols construits. La présence de boues de papeteries favorisait la densité des collembolles et la présence de cloportes et de lombrics endogés, probablement lié à une réserve en eau plus importante. En revanche, les communautés microbiennes semblent être moins impactées par la formulation des Technosols. En effet, la densité et la diversité bactérienne étaient similaires dans deux Technosols ayant, à 75 cm de profondeur, une couche de 25 cm de boues de papeterie chaulée ou non (Hafeez *et al.*, 2012) et étaient similaires à celles retrouvées dans des sols « naturels ». Par contre, les activités microbiennes peuvent être affectées sur le moyen terme, par l'ajout de matériaux industriels comme le biochar (Zhu *et al.*, 2017).

Le temps peut être également important pour la recolonisation des organismes vivants. Ainsi, huit mois après la construction d'un sol à partir de boues de papeterie, de terre contaminée traitée et recouverte de compost de déchets verts, des collembolles ont été retrouvés mais aucun individu de la macrofaune n'a été observé (Pey, 2010). Une macrofaune diversifiée (lombrics, diplopodes,

araignées *etc.*) a été observée *in situ*, trente mois après l'installation de ce même Technosol (Pey, 2010). Une recolonisation des communautés microbiennes durant des stades précoces du développement de l'écosystème a également été observée (Chapin *et al.* 1994, Banning *et al.*, 2011) avec une augmentation de la biomasse, de la diversité et de l'activité microbienne lors de la restauration de sols miniers délaissés (Banning *et al.*, 2008).

La littérature montre des lacunes dans la compréhension de l'évolution des paramètres physico-chimiques des Technosols construits et de leur recolonisation par des organismes vivants. Ainsi, l'objectif de notre étude était d'étudier les paramètres abiotiques et biotiques d'un Technosol construit et leur dynamique au cours du temps selon différentes modalités. Ce Technosol est construit à partir de terre contaminée par des hydrocarbures traitée par bioremédiation (biopile) à partir duquel ont été construites quatre modalités différentes. Une des modalités, exclusivement composée de terre de biopile, n'a subi aucun apport. Dans les autres modalités, un apport de boues industrielles, avec ou sans une inoculation par des champignons mycorhiziens, avec ou sans un apport de biochar ont été réalisés. Des peupliers ont été cultivés sur les quatre modalités. De la terre et des organismes vivants ont été prélevés à 1, 16, 22 et 28 mois après la construction du Technosol. L'analyse des paramètres abiotiques étudiés a été réalisée par Kanso (2016) et permet d'évaluer la fertilité et la concentration en contaminants métalliques des terres. L'analyse des paramètres biotiques a porté sur la densité et/ou la richesse taxonomique des communautés bactériennes, fongiques, de la méso- et macrofaune ainsi que la flore. L'activité microbienne globale a également été mesurée au cours du temps.

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Les quatre modalités du Technosol construit

Un Technosol avec quatre modalités a été construit dans l'objectif de produire de la biomasse végétale non alimentaire en revalorisant des sites dégradés et des sous-produits industriels dans le cadre du projet LORVER (www.lorver.org). Ce Technosol est un Spolic Technosol (IUSS Working Group WRB, 2014) qui a été construit en juin 2013 sous la forme d'un dispositif de parcelles par Suez RR IWS Minerals France SITA FD, dans l'enceinte du site de stockage de déchets dangereux à Jeandelaincourt (54114, France). Le climat de la région est continental, avec des moyennes annuelles de température comprises entre 1,4 et 18,5°C, ainsi qu'une précipitation annuelle moyenne de 750 mm. Les parcelles expérimentales (6×6 m² en surface et 2 m de profondeur) ont été construites sur une membrane étanche, et individuellement équipées d'un système de drainage afin de récolter les lixiviats.

Pour les quatre modalités, le Technosol est constitué d'une fine couche de matériau drainant au fond de la parcelle (0,5 m de gravier roulé de 16-32 mm), recouverte de terre initialement contaminée par des hydrocarbures, qui a été traitée par biopile par SITA FD (1,3 m). La couche supérieure (0,5 m) est différente selon les quatre modalités. Dans la première modalité nommée « TB », cette couche supérieure est constituée de la même terre traitée par biopile que celle de la couche inférieure. Dans la 2^{ème} modalité nommée « TB2NM » (pour « terre de biopile, boues, non-mycorhisée »), cette couche superficielle est constituée de terre de biopile mélangée avec des boues industrielles (95% TB, 5% de boues). La 3^{ème} modalité nommée « TB2M » (pour « terre de biopile, boues, mycorhisée ») est constituée de la même terre que TB2NM, mais a fait l'objet d'une inoculation par des champignons mycorhiziens (endo- et ectomycorhizien). Dans la 4^{ème} modalité, nommée « TB3M » (pour « terre de biopile, boues, biochar, mycorhisée ») cette couche superficielle est constituée d'un mélange de terre traitée par biopile, de boues et de biochar (92% de TB, 5% de boues et 3% de biochar) et a été inoculée par des champignons mycorhiziens (Figure 6.1).

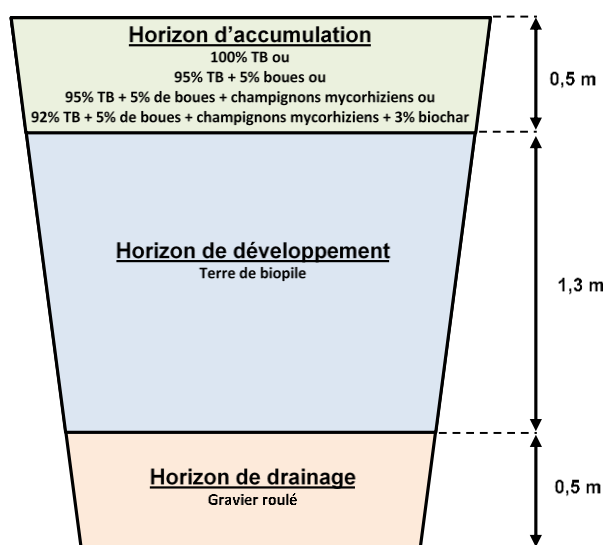


Figure 6.1 : Schéma du profil du Technosol construit selon les quatre modalités.

Les matériaux employés dans la construction du Technosol sont des sous-produits industriels. La terre de biopile avait une concentration en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) totale de 68,7 mg.kg⁻¹ de matière sèche (données personnelles). Les boues industrielles sont chargées en Eléments traces métalliques (ETM). Ces boues avaient des concentrations en Cd, Pb et Zn pseudo-totales (extraction à l'eau régale) de 114, 2046 et 9590 mg.kg⁻¹ de matière sèche respectivement, et des concentrations disponibles (extraites au diéthylène triamine penta-

acétique (DTPA)) de 0,6, 34,2 et 9,5 mg.kg⁻¹ de matière sèche, respectivement (Kanso, 2016). Le biochar utilisé est issu de la pyrolyse de bois (50% de résineux et 50% de feuillus) réalisé à une température maximale de 650°C par la méthode Pyreg (Maschinenring) et a été fourni par Swiss Biochar. Plus de détails sur les propriétés physico-chimiques des matériaux sont fournis en annexe 9 du manuscrit.

II.2. Plante et inoculum fongique

Ces quatre modalités ont été plantées avec quatre espèces végétales (voir « Matériel et méthodes » du manuscrit), dont le peuplier (*Populus trichocarpa* × *P.maximowiczii* – pépinière Vandromme), qui est la seule modalité suivie dans notre étude. Les peupliers ont été plantés sous formes de boutures, 9 mois après la construction des parcelles (le 17/04/2014, à T1). Une première plantation avait été effectuée environ 1 mois et demi après l'installation du Technosol (le 25/07/2013) mais les peupliers ne s'étaient pas développés à cause de conditions climatiques peu favorables.

L'inoculum de champignons mycorhiziens était un mélange de champignons endomycorhiziens (*Rhizophagus irregularis* ; 21 g d'inoculum solide à 4000 spores.g⁻¹ ; ENDO4000 PROBIOGREEN) et de champignons ectomycorhiziens (*Pisolithus tinctorius* ; 21 mg d'inoculum solide à 4.10⁶ spores.g⁻¹ ; MYC500® AGRI-BIOTECH). Les inoculums ont été dosés afin d'obtenir 84000 spores, par modalité, pour chaque champignon. L'inoculation a été réalisée lors de la première plantation, le 25/07/2013.

II.3. Méthodes d'échantillonnage

La terre des quatre modalités du Technosol a été échantillonnée à quatre dates différentes : en juillet 2013 « T0 » (1 mois après la construction du Technosol), octobre 2014 « T1 » (16 mois), avril 2015 « T2 » (22 mois) et en octobre 2015 « T3 » (28 mois). Pour chaque modalité et à chaque date, quatre points d'échantillonnage ont été réalisés, à 2 m du bord des parcelles et espacés de 2 m les uns des autres. Pour chaque point d'échantillonnage (i) un échantillon composite (provenant de quatre sous-échantillons de 10×10×10 cm (l×L×h) pour l'analyse des paramètres abiotiques et microbiens a été prélevé, (ii) un échantillon provenant d'une carotte de terre de 5 cm de diamètre et 5 cm de profondeur pour l'extraction des collemboles a été prélevé et (iii) un piège a été installé pour l'échantillonnage de la macrofaune. L'inventaire floristique a été réalisé sur la totalité de la parcelle.

II.4. Mesures des paramètres abiotiques et biotiques

II.4.1. Les paramètres abiotiques

Dix paramètres liés à la fertilité (paramètres agronomiques) et la concentration en trois éléments traces métalliques (ETM) ont été mesurés sur les échantillons de terre prélevés. Les analyses physico-chimiques ont été réalisées par Kanso (2016), suivant des méthodes normalisées françaises et internationales, incluant les conditions de stockage des échantillons (ISO 18512) : le pH, à partir de 20 g de terre fraîche dans de l'eau distillée avec un ratio de 1:5 (ISO 10390) ; la capacité d'échange cationique (CEC) par extraction à la cobaltihexamine (NF X 31-130); le carbone total (C), l'azote total (N) et la matière organique (MO), mesurés par combustion (après décarbonatation pour la MO) (ISO 10694) et le phosphore (P) disponible par la méthode d'Olsen (NF ISO 11263). Les cations échangeables (calcium (Ca), potassium (K), magnésium (Mg) et sodium (Na)) ont été extraits en utilisant la méthode à la cobaltihexamine (NF X 31-130) et leurs concentrations ont été mesurées par spectrométrie (optique d'émission) à plasma à couplage inductif (ou inductively coupled plasma - optical emission spectroscopy, ICP-OES) (ISO 22036). Les ETM disponibles dans les terres sont extraits grâce au mélange DTPA et CaCl_2 (NF EN 13651) et les concentrations ont été mesurées par ICP-OES (NF EN 13651). Les ETM pseudo-totaux ont été extraits à l'eau régale selon la norme (ISO NF 11466) et les concentrations ont été mesurées par ICP-OES (NF EN 13651).

II.4.2. Les paramètres biotiques

Huit variables biotiques ont été mesurées. Le compartiment microbien a été évalué par la densité bactérienne, la densité fongique et par l'activité enzymatique globale (hydrolyse de la fluoresceine diacetate (FDA)). Les invertébrés ont été pris en compte en mesurant la densité et la richesse taxonomique des collemboles et de la macrofaune active en surface. La diversité des plantes herbacées a été estimée par la richesse taxonomique.

II.4.2.1. Analyses microbiennes

Les méthodes et le matériel pour l'extraction de l'ADN des terres, les mesures des concentrations et de qualité de l'ADN extrait ainsi que la quantification de la densité bactérienne (gène codant l'ARNr 16S) et fongique (gène codant l'ARNr 18S) sont décrits dans le chapitre « Matériel et méthodes » du manuscrit et dans Vincent *et al.* (2018). Pour estimer l'activité enzymatique globale (activités des protéases, des lipases et des estérases), l'hydrolyse de la FDA a été mesurée selon le protocole décrit par Green *et al.* (2006). La colonisation des racines par des champignons mycorhiziens à arbuscules a été mesurée à T2 et T3 sur des racines de 3 peupliers différents pour

les quatre modalités. Trente fragments de racines ont été récoltés au hasard et colorés avec du bleu Trypan selon la méthode de Koske et Gemma, (1989). Le niveau de colonisation des racines a été estimé par la méthode de Trouvelot *et al.* (1986).

II.4.2.2. Densité et richesse taxonomique des invertébrés

Les collemboles ont été échantillonnés en utilisant un carottier de 5 cm de diamètre et de 5 cm de profondeur. Les collemboles ont ensuite été extraits par un extracteur à gradient de température (Macfadyen, 1961). Après extraction, les collemboles ont été transférés dans une solution d'éthanol à 70% (v/v) pour être conservés. Ensuite, les individus sont dénombrés pour déterminer leur densité et, après décoloration au chloral-lactophenol, identifiés jusqu'à l'espèce en utilisant les clés d'identification de Gisin, (1960), Zimdars et Dunger, (1994), Potapow (2001) et Hopkin (2007) pour mesurer la richesse taxonomique (nombre d'espèces différentes) de la communauté. La macrofaune a été échantillonnée en utilisant des pots pièges (pièges Barber), placés à chaque point d'échantillonnage, pour chaque date, durant 7 jours. Les pots pièges consistent en des récipients en plastique, enterrés jusqu'au niveau du sol, contenant environ 100 ml d'éthylène glycol, dans lesquels vont tomber les organismes de surface. La macrofaune a été transférée dans une solution d'éthanol à 70 % (v/v) le jour de l'échantillonnage. Les individus ont été dénombrés afin d'estimer leur densité et identifiés sous loupe binoculaire jusqu'à l'ordre ou la famille, grâce à des clés d'identifications adaptées (*e.g.* Bouche, 1972 et Sherlock, 2012 pour les vers de terre; Chinery et Legrand, 2005 et Roberts, 2009 pour les insectes adultes) pour mesurer la richesse taxonomique (nombre de taxons différents) des communautés.

II.4.2.3. Analyse de la flore herbacée

La richesse taxonomique de la flore herbacée (nombre de genres ou de familles différentes) a été évaluée sur toute la surface de la sous-parcelle, pour chaque modalité de Technosol et à chaque date, par un relevé en présence/absence. L'identification jusqu'à la famille ou le genre a été réalisée grâce aux clés Bonnier et De Layens (1996) et Polese (2007) pour mesurer la richesse taxonomique (nombre de taxon) de la communauté.

II.5. Analyses statistiques et multivariées

Pour chaque paramètre abiotique et biotique mesurés, les différences entre les modalités du Technosol et entre les temps de prélèvement ont été testées par une ANOVA à deux facteurs à mesures répétées. Pour déterminer l'effet de la modalité, un modèle linéaire a été réalisé pour chaque traitement avec le temps comme mesures répétées (Girden, 1992; Malmström *et al.*,

2009). Pour cela, les fonctions « lm » et « aov » du logiciel R (version 3.1.3, Development Core Team, 2015) ont été utilisés.

Les différences entre les modalités au cours du temps ont été étudiées d'une part sur les paramètres abiotiques, et d'autre part sur les paramètres biotiques, grâce à une analyse de Courbe de réponse principale ou *Principal Response Curve* (PRC) (Van den Brink, 1999) en utilisant la librairie « vegan » (Oksanen *et al.*, 2017). L'analyse PRC est une analyse adaptée à un jeu de données multivariées nécessitant la représentation des effets de différents traitements au cours du temps (Van Den Brink et Ter Braak, 1999). Cette analyse, utilisée dans des études de terrain (Frampton *et al.*, 2000; Pernin *et al.*, 2005; Cébron *et al.*, 2011), représente les différences de composition de paramètres mesurés, entre différents traitements et un contrôle, pour chaque date. Dans notre cas, le « contrôle » choisi est la modalité TB puisqu'il s'agit de la modalité sans apport. Deux analyses PRC différentes ont été réalisées sur un jeu de données log-centrées afin d'obtenir des données ayant le même poids. Une PRC a été réalisée sur les paramètres abiotiques (le pH, la CEC, teneur en P et en MO, le ratio C:N, les concentrations échangeables en Ca, K, Mg, Na et les concentrations disponibles en Cd, Zn et Pb) et une seconde PRC a été réalisée sur les paramètres biotiques (densité bactérienne et fongique, l'activité d'hydrolyse de la FDA, la densité et la richesse en collemboles et de la macrofaune ainsi que la richesse de la flore herbacée). Pour chaque PRC, deux graphiques ont été générés : un premier graphique représentant les différences entre les traitements comparés au « contrôle » TB et un second représentant le poids des paramètres (abiotiques ou biotiques).

Une Analyse canonique des correspondances (ACC) (Ter Braak, 1986) a été réalisée pour étudier les corrélations entre les variables abiotiques et biotiques sur les parcelles de Jeandelaincourt à la dernière date d'échantillonnage (T3). Cette analyse a pour but de mettre en évidence la part de variance des paramètres biologiques expliquée par les paramètres abiotiques. Cette analyse a été effectuée grâce à la fonction « cca » de la librairie « ade4 » (Dray et Dufour, 2007). Le logiciel R (version 3.1.3, Development Core Team, 2015) a été utilisé pour réaliser l'ensemble des tests statistiques, avec un niveau de significativité de 95%, et des analyses de données.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Paramètres abiotiques des terres des différentes modalités du Technosol construit

III.1.1. Caractérisation abiotique des modalités à T0

- **Les paramètres de fertilité**

A T0, le pH était significativement plus faible dans les modalités qui contenaient les boues industrielles (TB2NM, TB2M et TB3M) par rapport à TB (Tableau 6.1). L'apport de boues à la terre de biopile a fait baisser son pH. Cette baisse est accentuée en présence de biochar (différence significative entre TB et TB2M), contrairement à ce qui a été observé par d'autres auteurs (Houben *et al.*, 2013; Rees *et al.*, 2014). Les pH retrouvés dans le Technosol étaient supérieurs aux valeurs retrouvées dans des sols cultivés et des sols fortement anthropisés (7 et 7,5 respectivement; Joimel *et al.* 2016). La teneur en MO est significativement plus élevée dans TB3M par rapport aux autres modalités du Technosol. Le biochar, composé à 71% de carbone (Kanso, 2016), apporte ainsi une grande quantité de carbone dans le Technosol, notamment sous forme organique (Ameloot *et al.*, 2013; Vaccari *et al.*, 2015; Hartley *et al.*, 2016). Le Technosol avait des teneurs en MO très faibles comparées à celles des sols agricoles (25‰ en moyenne ; données Bioindicateurs II). Dans les modalités sans biochar, le même ordre de grandeur en MO avait été mesuré dans des sols urbains, industriels, routiers, miniers et de zones militaires (SUITMA en anglais) (6 à 8‰; Joimel *et al.* 2016). Le ratio C:N est significativement plus élevé dans la modalité TB3M par rapport aux autres modalités, car le biochar apporte beaucoup de carbone et peu d'azote par rapport aux autres matériaux (Ascough *et al.*, 2012; Zhu *et al.*, 2017). Le ratio C:N dans le Technosol était plus élevée que celui de sols agricoles (environ 10,4 ; données Bioindicateurs II; Stauffer, 2014). Les modalités TB2NM et TB2M avaient des ratios C:N similaires à ceux des sols d'anciennes cokeries (26 à 45, Biache *et al.* 2008) et TB3M avait un ratio C:N comparables à celui d'un sol d'ancienne cokerie traité par thermo-désorption (64, Biache *et al.*, 2008). La CEC n'était significativement pas différente selon les modalités (Tableau 6.1).

Tableau 6.1 : Paramètres abiotiques (mesurés par Kanso (2016)) et biotiques des quatre modalités de Technosol (TB , TB2NM, TB2M et TB3M) mesurés à quatre dates de prélèvements (T0, T1, T2 et T3), et résultats des tests statistiques (P-value). *Moyenne (Ecart-type) avec n=4. CEC en cmol⁺.kg⁻¹ de sol sec; P en mg.kg⁻¹ de sol sec; MO en % ; Ca, K, Mg, Na, Cd, Pb et Zn en mg.kg⁻¹ de sol sec ; Densité bactérienne et fongique en nombre de copie du gène ARNr 16S et 18S.g⁻¹ de sol sec, respectivement; Hydrolyse de la FDA en mU.g⁻¹ de sol sec ; Densité en collembole exprimée en nombre d'individus.m⁻² et en macrofaune exprimée en nombre d'individus par piège (placé durant 7 jours); Richesse en collembole exprimée en richesse spécifique; Richesse en macrofaune et en végétaux exprimées en richesse taxonomique.*

Temps	T0				T1				T2				T3				Test statistique (ANOVA 2 facteurs*) P-VALUE		
Modalités du Technosol	TB	TB2NM	TB2M	TB3M	TB	TB2NM	TB2M	TB3M	TB	TB2NM	TB2M	TB3M	TB	TB2NM	TB2M	TB3M	Effet modalités	Effet temps	Effet temps × modalités
Paramètres abiotiques																			
Capacité d'échange cationique (CEC)	8,0 g (0,5)	8,5 efg (0,1)	8,3 fg (0,4)	7,7 g (0,2)	10,5 abc (0,4)	11,2 a (0,4)	10,6 abc (0,4)	11,0 ab (0,2)	10,1 bcd (0,2)	11,0 ab (0,2)	11,0 ab (0,5)	10,7 abc (0,2)	9,2 def (0,3)	9,9 cd (0,3)	10,1 bcd (0,4)	9,4 de (0,7)	0,17	2e-07 ***	0,84
pH	8,3 ab (0,05)	7,9 cd (0,1)	8,0 cd (0,05)	7,7 d (0,05)	8,6 a (0,05)	8,6 a (0,12)	8,4 a (0,05)	8,3 ab (0,06)	8,3 abc (0,1)	8,6 a (0,15)	8,3 ab (0,44)	8,5 a (0,31)	8,4 a (0,06)	8,5 a (0,09)	8,5 a (0,17)	8,5 a (0,08)	0,16	4e-10 ***	4e-04 ***
Phosphore Olsen (P)	236 a (16)	185 bc (15)	198 b (16)	165 c (3)	46 fg (15)	26 g (7)	30 g (10)	24 g (6)	163 c (14)	90 de (14)	95 de (20)	92 de (13)	114 d (6)	74 ef (4)	74 ef (5)	67 ef (5)	0,02 *	4e-08 ***	0,95
C:N	16 d (1)	25 cd (1)	34 bcd (8)	56 a (18)	20 d (2)	29 bcd (6)	28 bcd (5)	54 a (13)	18 d (2)	24 d (4)	27 bcd (1)	46 ab (7)	17 d (2)	24 d (2)	25 d (4)	44 abc (13)	< 2e-16 ***	0,02 *	0,15
Matière organique (MO)	4,5 bc (0,1)	6,4 bc (0,2)	9,3 b (0,8)	20,5 a (2,5)	4,5 bc (0)	6,3 bc (0,6)	6,6 bc (0,7)	20,6 a (2,6)	4,0 c (0,3)	5,2 bc (0,3)	5,9 bc (0,4)	17,4 a (0,8)	3,7 c (0,2)	5,0 bc (0,2)	5,3 bc (0,5)	16,1 a (2,5)	< 2e-16 ***	1e-04 ***	0,13
Caéchangeable	2087 c (196)	5542 b (770)	6073 b (1135)	10790 a (797)	1909 c (107)	2159 c (76)	2365 c (103)	2482 c (212)	1977 c (129)	2202 c (73)	2149 c (73)	2159 c (43)	1744 c (52)	1846 c (82)	1903 c (120)	1803 c (183)	5e-08 ***	< 2e-16 ***	8e-13 ***
Kéchangeable	167 cde (22)	229 bcd (16)	264 b (57)	617 a (102)	170 cde (18)	147 de (12)	184 cde (11)	240 bc (18)	131 e (6)	131 e (6)	124 e (13)	157 cde (10)	142 e (15)	137 e (17)	134 e (15)	179 cde (31)	2e-12 ***	< 2e-16 ***	2e-13 ***
Mgéchangeable	106 c (12)	176 b (20)	204 b (70)	387 a (29)	83 cd (8)	62 cd (2)	66 cd (4)	85 cd (5)	66 cd (6)	58 cd (1)	54 cd (4)	60 cd (9)	69 cd (3)	56 cd (7)	53 d (5)	62 cd (17)	1e-05 ***	< 2e-16 ***	2e-10 ***
Naéchangeable	195 c (66)	686 b (92)	1020 b (507)	1968 a (116)	37 c (8)	59 c (32)	78 c (12)	106 c (37)	9 c (4)	16 c (1)	35 c (34)	22 c (2)	24 c (5)	37 c (4)	41 c (6)	46 c (16)	2e-05 ***	< 2e-16 ***	2e-09 ***
Cddisponible	0,3 f (0)	4,2 cde (0,2)	3,5 de (0,5)	6,0 a (0,5)	1,1 f (0,5)	4,2 cde (0,5)	3,6 de (0,5)	5,5 ab (0,5)	1,4 f (0,9)	3,4 e (0,2)	4,1 cde (0,3)	5,0 abc (0,6)	1,0 f (0,5)	3,3 e (0,2)	3,4 e (0,1)	4,6 bcd (0,2)	< 2e-16 ***	0,04 *	7e-06 ***
Pbdisponible	8,7 d (1)	53,6 c (3)	49,5 c (5)	59,5 c (2)	15,8 d (2)	68,9 abc (13)	65,0 bc (10)	89,3 ab (4)	11,3 d (2)	58,1 c (4)	66,1 c (13)	90,4 a (26)	12,0 d (3)	53,4 c (2)	68,6 abc (16)	72,9 abc (4)	< 2e-16 ***	7e-03 ***	0,15
Zndisponible	17 f (0,3)	192 c (12,9)	178 c (24,7)	250 b (14,4)	21 f (2,8)	176 c (26,7)	172 cd (36,8)	301 a (24,5)	16 f (3,5)	146 cde (19,2)	155 cde (28,2)	246 b (19,6)	16 f (2,8)	119 e (7,1)	125 de (12,7)	188 c (13)	< 2e-16 ***	1e-05 ***	0,06
Cdtotaux	7 d (3)	41 b (8)	36 bc (5)	53 a (5)	9 d (6)	28 c (3)	34 bc (1)	43 b (4)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	< 2e-16***	6e-04***	9e-03***
Pbtotaux	93 d (13)	702 b (97)	630 bc (82)	881 a (125)	83 d (20)	507 c (69)	558 bc (64)	702 b (95)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	< 2e-16***	6e-05***	0,04*
Zntotaux	323 d (27)	2748 b (353)	2393 bc (250)	3455 a (463)	290 d (54)	1990 c (247)	2086 c (167)	2768 b (326)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	< 2e-16***	1e-05***	0,02*

Temps	T0				T1				T2				T3			
Modalités du Technosol	TB	TB2NM	TB2M	TB3M	TB	TB2NM	TB2M	TB3M	TB	TB2NM	TB2M	TB3M	TB	TB2NM	TB2M	TB3M
Paramètres biotiques																
Densité bactérienne ($\times 10^{10}$)	9,2 b (0)	9,1 b (0)	9,4 b (0,1)	8,8 b (0)	9,4 b (0,1)	9,4 b (0,1)	9,2 b (0)	9,3 b (0,1)	10,3 a (0,6)	10,3 a (0,5)	10,2 a (0,5)	10,1 a (0,4)	10,2 a (0,1)	10,1 a (0,7)	10,1 a (0,3)	10,2 a (0,5)
Densité fongique ($\times 10^8$)	7,2 e (0,02)	7,3 e (0,02)	7,3 e (0,02)	6,8 e (0,03)	7,6 de (0,15)	7,6 cde (0,15)	7,5 de (0,16)	7,3 e (0,12)	8,6 bcd (1,55)	8,7 bc (1,23)	8,7 bcd (3,98)	8,5 bcd (1,27)	8,6 bcd (0,43)	8,8 ab (3,02)	8,7 ab (0,52)	9,0 a (4,18)
Hydrolyse de la FDA	3,8 a (0,5)	1,7 bcd (0,3)	1,5 cd (0,2)	0,7 d (0,1)	3,0 a (0,5)	3,8 a (0,2)	3,3 a (0,4)	3,5 a (1)	3,0 a (0,9)	3,6 a (0,4)	2,7 ab (1)	1,5 cd (0,3)	2,8 abc (0,2)	2,7 abc (0,3)	3,0 ab (0,2)	1,6 cd (0,1)
Richesse végétale	0	0	0	0	11	8	8	8	13	13	12	11	14	13	11	11
Densité de la macrofaune	0 e (0)	0 e (0)	0 e (0)	0 e (0)	108 a (29)	51 abc (13)	73 ab (24)	63 ab (4)	15 cde (4)	15 cde (4)	12 cde (3)	9 cd (3)	89 ab (29)	52 bcd (14)	76 bc (25)	66 ab (24)
Richesse de la macrofaune	0,0 f (0)	0,0 f (0)	0,0 f (0)	0,0 f (0)	14,3 a (4)	12,8 ab (2)	12,3 ab (1)	11,8 abc (2)	5,0 ef (1)	6,5 de (2)	6,3 de (3)	4,8 ef (2)	9,5 abcde (1)	8,0 bcde (2)	6,8 cde (5)	10,3 abcde (2)
Densité en collembole ($\times 10^3$)	0,5 bc (0)	0,1 bc (0)	0,0 c (0)	0,6 bc (1)	7,3 abc (6)	1,3 bc (2)	16,0 abc (6)	26,4 abc (7)	38,8 a (22)	40,6 a (37)	24,7 abc (12)	34,6 ab (27)	10,7 abc (6)	3,9 bc (3)	6,6 abc (3)	2,5 bc (2)
Richesse en collembole	1,0 bc (0,8)	0,3 cd (0,5)	0,0 c (0)	0,5 bc (1)	4,3 abc (2,6)	1,3 bc (1,5)	6,3 a (1,7)	4,8 ab (1)	3,5 abc (1)	3,8 abc (2,1)	3,8 abc (1,5)	2,3 abc (1,5)	5,8 a (3,1)	3,8 abc (2,5)	3,3 abc (2,5)	2,3 abc (1,3)

Test statistique (ANOVA 2 facteurs*)
P-VALUE

Effet modalités Effet temps Effet temps × modalités

0,5 2e-11 *** 0,73

0,57 1e-10 *** 0,34

2e-04 *** 0,03 * 0,01 *

0,96 1e-08 *** NA

0,24 6e-05 *** 0,87

0,95 2e-06 *** 0,96

0,89 0,01 * 0,95

0,19 2e-05 *** 0,03 *

* sauf pour la richesse végétale avec deux ANOVA 1 facteur.

Les concentrations en cations majeurs échangeables (Ca, K, Mg et Na) sont significativement plus élevées dans TB3M comparées aux autres modalités, et sont plus élevées dans les terres TB2NM et TB2M comparées à TB pour le Ca, le Mg et le Na. Le biochar pourrait contribuer à cette valeur plus élevée de K dans la modalité TB3M car la teneur en K échangeable de ce matériau est plus élevée que dans les autres (301, 50,5 et 174 mg.kg⁻¹ de K échangeable dans le biochar, la boue et la terre de biopile respectivement). Cette différence est due à de fortes teneurs en sels de potassium (Rees *et al.*, 2014). Par contre, pour Ca, Mg et Na, les teneurs présentes dans le biochar sont beaucoup plus faibles que dans les autres matériaux (analyses statistiques non réalisable en l'absence de réplicats; Kanso, 2016). Les concentrations importantes en Na (248 mg.kg⁻¹) des boues, associées au fort pouvoir d'adsorption du biochar, pourraient expliquer cette concentration en Na plus élevée dans TB3M. Cette immobilisation des métaux par le biochar serait liée aux phases minérales de celui-ci, comme la calcite et la silice. Lorsque le biochar est ajouté dans un sol (généralement plus acide), de nouvelles phases minérales peuvent se former à la surface du biochar, augmentant ainsi l'adsorption des métaux (Rees *et al.*, 2014; Kanso, 2016). Pour le Ca et le Mg, même si les concentrations sont plus faibles dans le biochar et les boues industrielles comparées à celle de la terre de biopile (2,7 290 et 2087 mg.kg⁻¹ de Ca échangeable et 3, 13,6 et 106 mg.kg⁻¹ de Mg échangeable dans le biochar, la boue et la terre de biopile respectivement), l'association boues industrielles/biochar accroît la concentration de ces éléments par le pouvoir adsorbant élevé du biochar. La modalité TB est pauvre en Ca comparée à des sols agricoles (2400-4400 mg.kg⁻¹, Stauffer *et al.*, 2014; Agegnehu *et al.*, 2016). Par contre, la modalité TB3M a une teneur en Ca plus élevée que dans des sols agricoles. Comparé à un sol agricole (avec une concentration en K de 265-351 mg.kg⁻¹, Stauffer *et al.*, 2014; Agegnehu *et al.*, 2016), les teneurs en K dans TB étaient plus faibles, TB2NM et TB2M avaient des teneurs en K comparables à ce type de sol et TB3M avait des valeurs beaucoup plus élevées. De plus, le Technosol avait des teneurs en Mg et Na beaucoup plus élevées que des sols agricoles (70 et 9 mg.kg⁻¹ respectivement; Stauffer *et al.*, 2014). La forte salinité de la terre de biopile, accrue par l'apport de boues pourrait limiter l'utilisation de Technosols pour produire de la biomasse. Ces apports peuvent entraîner un déséquilibre des éléments dans les végétaux, voire même une toxicité (Séré *et al.*, 2010; Huot *et al.*, 2013; Rokia *et al.*, 2014).

La teneur en P disponible est significativement plus faible dans les modalités contenant des boues (TB2NM, TB2M et TB3M) par rapport à la modalité TB. Cette diminution des teneurs en P est probablement due aux faibles teneurs en P disponibles dans les boues par rapport à la terre de biopile (analyses statistiques non réalisables ; 50,2, 39,3 et 236 mg.kg⁻¹ de P disponible dans le biochar, la boue et la terre de biopile respectivement ; Kanso, 2016). Le Technosol possède des teneurs en P disponible beaucoup plus élevées que celles mesurées dans des sols cultivés ou de prairies (environ 70 et 30 mg.kg⁻¹, respectivement; Joimel *et al.* 2016).

• Les contaminants

A T0, les concentrations en ETM (Cd, Pb et Zn) sont significativement plus élevées dans les modalités avec boues (TB2NM, TB2M et TB3M) par rapport à la modalité TB. De plus, les teneurs en Cd et Zn sont plus élevées dans la modalité TB3M par rapport à TB2NM et TB2M. Ainsi, l'ajout de boues industrielles a augmenté la concentration en ETM dans le Technosol et l'ajout de biochar accroît les concentrations en Cd et Zn. Le biochar lui-même apporte peu d'ETM (0, 0,06 et 0,45 mg.kg⁻¹ de biochar de Cd, Pb et Zn échangeables, respectivement), mais il a un fort pouvoir d'adsorption (Uchimiya *et al.*, 2010) favorisant l'augmentation des concentrations en métaux dans le mélange boue industrielle/biochar (Beesley *et al.*, 2011; Rees *et al.*, 2014). Cependant, les effets du biochar sur la disponibilité des ETM semblent varier en fonction du type de biochar et de l'élément étudié (Zhang *et al.*, 2016). Ainsi, plusieurs travaux ont aussi montré une diminution des concentrations disponibles en ETM lorsque du biochar était ajouté à un sol contaminé (Ehsan *et al.*, 2014; Gregory *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2014). Les ETM disponibles sont bien au-dessus du fond géochimique (Darmendrail *et al.*, 2000) et également au-dessus de valeurs mesurées dans des sols agricoles français (Duigou *et al.*, 2011). Les modalités avec boues (TB2NM, TB2M, TB3M) avaient des teneurs en Cd et Zn disponibles plus élevées que des sols miniers (4,5, 466 et 150 mg.kg⁻¹ de Cd, Pb et Zn respectivement ; Dai *et al.*, 2004), montrant ainsi une forte contamination en ETM de ces modalités. Les modalités TB2NM et TB2M présentaient des teneurs en Zn disponible similaires à celles mesurées dans des sols de cokeries (environ 200 mg.kg⁻¹ ; Bourceret *et al.*, 2016). Pour le Pb, les teneurs étaient plus élevées que celles retrouvées en milieu urbain (17 mg.kg⁻¹ ; Luo *et al.*, 2012). Lorsque l'on observe les concentrations pseudo-totales en ETM (minéralisation à l'eau régale) dans le Technosol, elles sont significativement plus élevées dans les modalités TB2NM et TB2M et encore significativement plus élevées dans TB3M par rapport à TB. Dans les modalités contenant des boues, les concentrations en ETM pseudo-totaux sont supérieures à celles mesurées dans des SUTMA (1,3, 415 et 310 mg.kg⁻¹ de Cd, Pb et Zn en moyenne ; Joimel *et al.*, 2016), des sols d'anciennes cokeries et sidérurgies (2,7, 482 et 2086 mg.kg⁻¹ de Cd, Pb et Zn en moyenne ; Ouvrard *et al.*, 2011) et des sols miniers (environ 11, 600 et 1100 mg.kg⁻¹ de Cd, Pb et Zn en moyenne ; Li *et al.*, 2014). De ce fait, il est possible que ces concentrations soient toxiques pour les plantes à cultiver.

Les concentrations en HAP ont été mesurées dans les quatre modalités à T2 permettant de mettre en évidence une faible contamination en HAP du Technosol (10±4 mg (Σ16 HAP US-EPA).kg⁻¹ de terre sèche ; Vincent *et al.*, 2018). En effet, les concentrations en HAP du Technosol sont faibles comparées à celles des sols de cokeries (1924 mg.kg⁻¹ de HAP en moyenne ; Ouvrard *et al.*, 2011) mais sont toutefois plus élevées par rapport à celles des sols agricoles (0,2 et 0,4 mg.kg⁻¹ de HAP; Nam *et al.*, 2003; Maliszewska-kordybach *et al.*, 2009). Les faibles teneurs en HAP dans la terre de

biopile ($68,7 \text{ mg.kg}^{-1}$ de HAP) montrent que, soit la terre de biopile n'était initialement pas contaminée par des HAP (car il s'agissait plutôt d'hydrocarbures du type essence, diesel, kérosène *etc.*), soit le processus de remédiation par biocentre® est efficace. La contamination initiale était probablement causée par des HAP légers puisque les HAP à faibles poids moléculaires sont rapidement minéralisés par les micro-organismes.

III.1.2. Evolution au cours du temps des paramètres abiotiques

L'analyse PRC calculée à partir des paramètres abiotiques est présentée dans la figure 6.2. La différence expliquée par l'effet « temps » constitue 58% de la variance totale et celle expliquée par l'effet « modalité de Technosol » en constitue 27%. L'analyse distingue la modalité TB des modalités qui contenaient des boues (TB2NM, TB2M et TB3M). Parmi ces dernières, la modalité TB3M se distingue des modalités TB2NM et TB2M car l'ajout de biochar augmente significativement les teneurs en cations majeurs, en MO, en ETM et le ratio C:N dans TB3M. Cette différence se maintient au cours du temps. Tous les paramètres abiotiques, sauf la CEC et le pH, différencient significativement la modalité TB des autres modalités du Technosol au cours du temps.

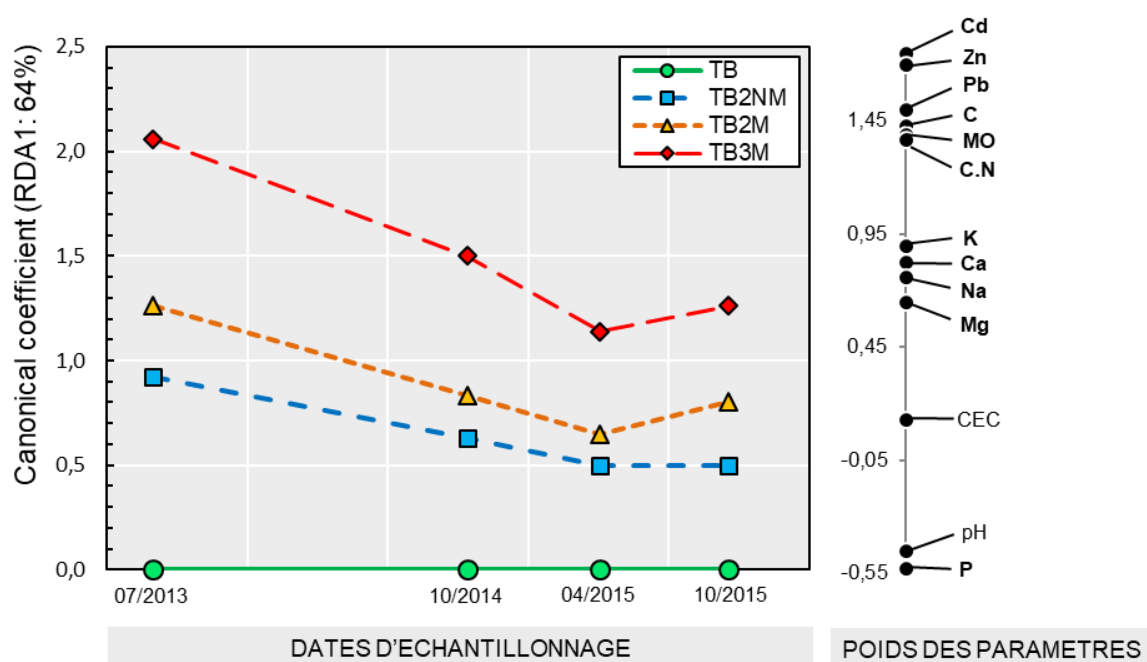


Figure 6.2 : Courbes de réponse principale de l'analyse PRC des quatre modalités de Technosol selon les paramètres abiotiques. Le 1^{er} axe indique les différences entre les modalités de Technosols (TB2NM, TB2M et TB3M par rapport au témoin TB) au cours du temps. Le poids des paramètres représente l'affinité des paramètres aux courbes de réponse principale. Seuls les paramètres ayant un poids supérieur à 0.5 ou inférieur à -0.5 sont considérés comme des indicateurs significatifs (en gras). pH=pH mesurée dans l'eau, CEC=capacité d'échange cationique, P=phosphore Olsen ; MO=matière organique ; C.N=ratio C:N ; (Concentrations en) Ca=calcium échangeable ; K=potassium échangeable ; Mg=magnésium échangeable ; Na=sodium échangeable ; Cd=cadmium disponible ; Zn=zinc disponible ; Pb=plomb disponible.

III.1.2.1. Les éléments minéraux apportés par les boues industrielles et le biochar sont rapidement lessivés

Au cours du temps, les modalités amendées en boues industrielles (avec ou sans biochar) ont des valeurs de paramètres abiotiques qui se rapprochent de celles de la modalité TB. En effet, à T3 (28 mois après la mise en place), ni le pH, ni les teneurs en cations majeurs (Ca, K, Mg et Na) n'étaient significativement différents entre les modalités alors qu'ils l'étaient à T0.

Le pH de la modalité TB n'évolue significativement pas au cours du temps. Par contre, l'acidification observée par l'ajout de boues (et du biochar) à T0 disparaît au cours du temps, notamment entre T0 et T1, 16 mois après la mise en place. En effet, dans les parcelles amendées, le pH augmente pour atteindre des valeurs identiques à la modalité sans boues (TB). Même si le pH de la terre de biopile a été significativement diminué par l'ajout de boues industrielles acides, permettant d'avoir un pH plus proche de la neutralité (entre 8,0 et 7,7 au lieu de 8,3 en moyenne), le pH a de nouveau atteint des valeurs élevées après 16 mois d'installation des parcelles (entre 8,3 et 8,6 en moyenne). Ces valeurs étaient supérieures aux valeurs de la médiane des sols agricoles français (7,1 ; Saby *et al.*, 2014). Il est possible que le pH ait influencé le lessivage des

éléments minéraux. En effet, à T0, le pH des modalités contenant des boues était plus faible que celui de la modalité TB, favorisant ainsi la mobilité des cations basiques. A partir de T1, le pH ayant augmenté, la mobilité des cations est diminuée.

Les concentrations en cations majeurs échangeables apportées par les boues industrielles et augmentées par la présence de biochar, diminuent significativement entre T0 et T1, pour se stabiliser ensuite. Ainsi, au-delà de T1, les teneurs en cations majeurs n'étaient plus significativement différentes entre les modalités. Ceci est probablement lié à une lixiviation de ces éléments lors des premières pluies. En effet, de fortes pluies, et un mauvais drainage de l'eau sur les parcelles TB2NM et TB3M notamment, ont été constatées durant le mois d'octobre 2014 (T1), pouvant causer la perte de nombreux éléments par lessivage (Séré *et al.*, 2010; Huot *et al.*, 2014). Une perte rapide de nombreux éléments minéraux du sol a également été observée dans des sols construits dans des lysimètres (Séré *et al.*, 2010; Huot *et al.*, 2014), ou dans des Technosols en place après 10 ans d'évolution (Scholtus *et al.*, 2014). En laboratoire, Kanso, (2016) ont montré également une perte en cations majeurs dès le premier lessivage. Une diminution en cations majeurs dans les horizons de surface semble donc être un phénomène fréquent dans les premières étapes de l'évolution des Technosols (Scholtus *et al.*, 2014). Bien que la pédogénèse des Technosols soit rapide, les concentrations en Na échangeables restent élevées après plusieurs années (4 fois plus élevées en moyenne à T3 par rapport à un sol agricole (9,2; Stauffer *et al.*, 2014)). De plus, les concentrations en K échangeable dans les modalités du Technosol étudié après seize mois d'installation (T1), étaient plus faibles que celle retrouvée dans un sol agricole (265-351 mg.kg⁻¹, Stauffer *et al.*, 2014; Agegnehu *et al.*, 2016). Toutefois, une concentration en K échangeable égale à 144 mg.kg⁻¹ de sol serait considérée comme suffisante pour les cultures exigeantes en cet élément (Kanso, 2016). Le Ca échangeable pourrait être un élément limitant car les concentrations mesurées dans le Technosol étudié, après seize mois d'installation, sont plus faibles que certaines valeurs mesurées dans des sols agricoles (2400-4400 mg.kg⁻¹, Stauffer *et al.*, 2014; Agegnehu *et al.*, 2016). Quant au Mg échangeable, les concentrations mesurées dans les Technosols étudiés après un an d'installation sont plus faibles que celles des sols agricoles (324 mg.kg⁻¹, Agegnehu *et al.*, 2016). La CEC augmente de façon significative au cours du temps pour toutes les parcelles, probablement due au lessivage des cations basiques, mais reste plus faible que celles mesurées dans des sols agricoles (16-22 ; Stauffer *et al.*, 2014; Agegnehu *et al.*, 2016).

La teneur en P diminue fortement et de façon significative entre T0 et T1. Dans des sols alcalins, le P précipite avec le Ca et n'est plus assimilable. Toutefois, la teneur en P assimilable a diminué dans toutes les modalités et cette diminution pourrait être liée au lessivage de cet élément par les pluies, comme pour les cations majeurs échangeables (Scholtus *et al.*, 2014). Cette hypothèse est également supportée par des expériences réalisées en colonne de sol construits en laboratoire

(Kanso, 2016). Toutefois, une ré-augmentation légère mais significative des concentrations en P est observée entre T1 et T2 et reste significativement stable jusqu'à T3 (sauf pour TB). La teneur en MO dans le Technosol a tendance à légèrement diminuer au cours du temps mais, pour chaque modalité, cette diminution n'est pas significative. Le rapport C/N ne varie pas au cours du temps cela est probablement dû à une diminution de l'azote similaire à celle de la MO.

III.1.2.2. Le Zn et le Cd disponibles sont lentement lessivés

L'analyse PRC montre que les teneurs en ETM sont des paramètres discriminants les modalités au cours du temps (Figure 6.2). Tout d'abord, dans la modalité TB durant la même période, les concentrations en ETM n'ont pas évolué (Tableau 6.1). Par contre, la concentration en Cd, et Zn disponibles ont diminué significativement entre T0 et T3 dans la modalité TB3M cette diminution est probablement due au lessivage de ces éléments. Une augmentation significative de la teneur en Zn a été observée entre T0 et T1 dans la modalité TB2M. Pour le Pb dans TB3M, une augmentation significative a été observée entre T0 et T1 et également T2 mais cette différence n'était plus significative à T3. Certains auteurs ont montré une faible mobilisation du Pb dans des boues issues de l'industrie minière selon Lacal *et al.* (2003) ou issues de traitements d'eaux usées selon Braga *et al.* (2017). Dans les modalités TB2NM et TB2M, seule la concentration en Zn disponible a diminué significativement entre T0 et T3, diminution probablement due au lessivage de cet élément. Ainsi, le Pb semble peu lessivé dans le Technosol, contrairement au Zn qui semble plus facilement lessivable. Le Cd a été lessivé uniquement dans TB3M, lessivage probablement dû au fait que les concentrations étaient élevées à T0. De façon générale, le lessivage des ETM est lent, peut-être à cause d'un pH élevé (Ge *et al.*, 2000). Lorsque l'on s'intéresse aux concentrations pseudo-totales des ETM, une diminution significative de tous les éléments dans les parcelles TB2NM et TB3M entre T0 et T1 a été observée. Ainsi, un lessivage des éléments a été également observé mais il semble plus important sur TB2NM et TB3M ce qui est probablement lié au mauvais drainage de l'eau constaté sur ces parcelles avant T1.

III.2. Paramètres biotiques des terres dans les différentes modalités du Technosol

III.2.1. Caractérisation biotique des modalités à T0 : Présence des micro-organismes et des collemboles.

A T0 (35 jours après la mise en place du Technosol), seuls les micro-organismes et les collemboles étaient présents. Les micro-organismes pourraient majoritairement provenir de la terre de biopile. En effet, ce procédé consiste à stimuler la croissance microbienne autochtone pour dégrader les molécules organiques (Baldan *et al.*, 2015). De plus, la présence de micro-organismes

dès l'arrêt de la perturbation semble courante (site ayant subi un incendie, Muñoz-Rojas *et al.*, 2016; ancien site minier, Banning *et al.*, 2011). D'autres auteurs ont également montré une augmentation rapide de la richesse en collemboles après une perturbation (en moyenne 0,9 espèce de plus par an, durant 9 ans sur une forêt brûlée ; Malmström, 2012). Burrow (2015) observent également une recolonisation rapide par les collemboles. En effet, ces auteurs constatent que les collemboles sont observables 6 mois après la mise en place d'un Technosol contaminé par des ETM qui était dépourvu de pédofaune. Comme pour les micro-organismes, les collemboles présents à T0 provenaient sûrement des matériaux de construction, notamment la terre de biopile, comme Cortet *et al.* (2013) l'ont constaté dans un sol construit avec du compost.

A T0, seule l'activité microbienne globale était un paramètre biotique significativement différent entre les modalités. En effet, l'activité microbienne était significativement plus élevée dans TB par rapport aux autres modalités (Tableau 6.1). La contamination métallique et la forte concentration en cation majeurs issues des boues peuvent inhiber l'activité microbienne globale (Yang *et al.*, 2016). En effet, de nombreuses activités enzymatiques peuvent être diminuées en présence de fortes concentrations en métaux (ETM et cations majeurs) dans le sol (Rietz et Haynes, 2003; Wahsha *et al.*, 2017), dont l'hydrolyse de la FDA (Rietz et Haynes, 2003; Chae *et al.*, 2017).

III.2.2. Evolution au cours du temps des paramètres biotiques

III.2.2.1. La macrofaune et les végétaux colonisent le Technosol 16 mois après sa construction

Les micro-organismes et les collemboles étaient présents à T0. Par contre, la macrofaune et la flore n'étaient pas présentes un mois après l'installation du Technosol. En effet, elles ne sont présentes qu'à partir de T1, c'est à dire 16 mois après la construction du Technosol. L'absence de macrofaune au moment de la construction d'un Technosol a également été observée (Cortet *et al.*, 2013). La macrofaune est présente à partir de 6 mois après la mise en place du Technosol contaminé au ETM, selon les travaux de Burrow, (2015) et 5 mois après une perturbation par un incendie selon (Malmström *et al.*, 2009). Par contre, Pey (2010) n'observait pas de macrofaune dans un Technosol 8 mois après sa construction. Il est à noter que peu d'études s'intéressent à la colonisation de la macrofaune dans les premiers mois après la construction ou la perturbation d'un sol. La flore n'a peut-être pas colonisé le Technosol avant T1 au cause de la forte salinité. En effet, les peupliers cultivés sur le Technosol ne se sont pas développés dès la première culture, en juillet 2013, laissant supposer une phytotoxicité des terres. De plus, les conditions climatiques n'étaient pas favorables à l'implantation des peupliers. Les détails de la structure des communautés de collemboles et de la macrofaune échantillonnées au cours du temps sont présentés en annexes 10 et 11 respectivement.

III.2.2.1. Colonisation des différentes modalités du Technosol construit par les micro-organismes, la faune et les végétaux

Tous les paramètres biotiques sont significativement influencés par le temps (Tableau 6.1). Les densités bactériennes et fongiques ont augmenté significativement entre T1 et T2. Cela a également été observé par Thion *et al.* (2012) sur les communautés fongiques d'un ancien sol contaminé traité par thermo-désorption, et également Dangi *et al.* (2012) sur les communautés fongiques et bactériennes d'un ancien site à charbon réhabilité. A T3, la densité fongique est significativement plus élevée dans la modalité TB3M comparée à la modalité TB. Comme l'ont souligné Zhu *et al.* (2017), l'application de biochar contribue à la formation de macro-agrégats pouvant favoriser la croissance des champignons plutôt que celle des bactéries dans des conditions environnementales similaires. De plus, les champignons sont capables de coloniser des milieux avec des ratios C:N élevés comme les modalités contenant du biochar (Ascough *et al.*, 2012). A T3, les densités bactériennes et fongiques sont comparables à celles des sols agricoles (1.10^{10} nombre de copie de gène ARN16S selon la base de données Bioindicateur II et 2.10^8 nombre de copie de gène ARN18S selon Prevost-Boure *et al.* 2011). L'activité microbienne globale (hydrolyse de la FDA) a évolué entre T0 et T1, mais uniquement dans les modalités présentant des boues. En effet, l'activité microbienne globale n'évolue significativement pas au cours du temps dans la modalité TB. A T3, l'activité microbienne globale dans le Technosol est du même ordre de grandeur que dans des sols agricoles (2 mU.g^{-1} de sol sec ; Stauffer *et al.*, 2014), mais était significativement plus faible dans TB3M par rapport aux autres modalités. D'autres auteurs ont également montré un effet négatif du biochar sur l'activité microbienne, notamment sur la respiration (Bamminger *et al.*, 2014). Cette différence d'activité microbienne globale n'est pas liée à la densité microbienne, qui n'est pas modifiée par la présence de biochar (Tableau 6.1), comme Bamminger *et al.* (2014) l'ont aussi montré. Des essais réalisés dans notre laboratoire avaient également montré que la présence du biochar ne modifiait pas significativement l'activité d'hydrolyse de la FDA (activités de 4,7 et 5,3 U dans de la terre de biopile sans et avec biochar respectivement). Plusieurs hypothèses (non exclusives) ont été avancées pour expliquer cet effet négatif du biochar sur l'activité microbienne. La première hypothèse porte sur les modifications des conditions hydriques par l'ajout de biochar car ce dernier accroît fortement la capacité de rétention en eau du sol (Baronti *et al.*, 2014) pouvant favoriser l'apparition de conditions anoxiques (Ameloot *et al.*, 2013) et ainsi affecter l'activité microbienne (Jeffery *et al.*, 2011). Une deuxième hypothèse porte sur l'effet adsorbant du biochar qui limiterait la ressource disponible en N, diminuant ainsi l'activité de décomposition, ce qui pourrait être cohérent avec le C:N élevé pour TB3M. Enfin, la contamination métallique liée à la présence de biochar et à sa forte capacité d'adsorption des ETM, favoriserait l'inhibition de certaines activités enzymatiques (Yang *et al.*, 2016).

Pour la densité en invertébrés (collembole et macrofaune), on observe un effet saisonnier, avec les collemboles moins abondants à l'automne, par rapport au printemps, alors que la macrofaune est plus abondante à l'automne qu'au printemps. Un effet saisonnier sur la densité des invertébrés a déjà été observé par différents auteurs (*e.g.* Spurgeon et Hopkin S.P., 1999; Rossi et Blanchart, 2005; Çakır et Makineci, 2017). En ce qui concerne la macrofaune, sa richesse évolue de la même façon que sa densité ce qui est probablement dû également à un effet saisonnier qui affecte certains taxa, en fonction de leur cycle de vie annuel. La densité et la richesse de la macrofaune est identique pour toutes les modalités. Les densités en macrofaune dans le Technosol à T3, sont similaires à des valeurs retrouvées en milieux agricoles, avec une richesse légèrement plus faible comparée à celle des sols agricoles (par pot pièges, une abondance de 72 individus récoltés pendant 7 jours et une richesse taxonomique de 11 ont été mesurées par Rousseau *et al.* (2013)). Concernant les communautés de collemboles, la richesse varie également en fonction du temps mais dépend de la modalité du Technosol. En effet, une différence significative est observée entre TB2NM et TB2M à T1 et entre TB2NM et TB3M à T3. La densité en collemboles dans le Technosol à T3 est comparable à celle des sols arables (4.10^3 ind.m⁻² ; Joimel *et al.* 2017) sauf pour la modalité TB qui présente une densité plus importante, comparable à celles des sols de forêts ou de prairies (10.10^3 et 12.10^3 ind.m⁻² ; Joimel *et al.*, 2017). Par contre, la richesse spécifique en collemboles du Technosol étudié est beaucoup plus important que dans des sols arables (0,3 espèces en moyenne ; Joimel *et al.*, 2017) et du même ordre de grandeur que dans des sols cultivés (richesse spécifique de 3 selon la base de donnée Bioindicateur II).

La colonisation végétale augmente de façon croissante ($R^2=0,91$, $P<0,01$), passant de 0 à T0, à 14 taxa au maximum (sur TB) et 11 taxa au minimum (sur TB3M) à T3. L'augmentation de la richesse végétale semble être courante après une perturbation (activités minières; Wali, 1999; Hendrychová, 2008; Mudrak *et al.*, 2016). C'est à partir de T1 que les peupliers ont été plantés. La phytotoxicité semblait moindre puisque les plants de peupliers se sont développés à partir de T1. Ainsi, une production de biomasse de peuplier est possible sur ces Technosols après 9 mois de stabilisation, ce qui est notamment lié à une diminution de la salinité. A T1, les champignons mycorhiziens ont été inoculés. A T2, aucune différence significative entre les modalités n'a été observée ($P=0,73$), avec une fréquence de mycorhization moyenne de 16% (Berthelot, communication personnelle). A T3, aucune différence significative entre les modalités n'a non plus été observée ($P=0,31$) ; la mycorhization était élevée dans toutes les modalités (avec une fréquence de mycorhization moyenne du peuplier de 80% (Berthelot, communication personnelle)). Ainsi, nous ne pouvons pas conclure sur l'effet de l'inoculation fongique sur les paramètres biotiques et abiotiques mesurés.

III.2.2.3. La colonisation des organismes est peu influencée par l'ajout de boues et de biochar

Selon l'analyse PRC, la différence expliquée par l'effet « temps » constitue 67% de la variance totale et celle expliquée par l'effet « modalité de Technosol » en constitue 15%. Cela montre que le temps a un effet beaucoup plus important que les modalités de Technosol, ce résultat est confirmé par les analyses statistiques en tableau 6.1. L'analyse PRC montre que les paramètres significatifs qui expliquent les différences entre la modalité TB et les autres modalités du Technosol au cours du temps sont l'hydrolyse de la FDA et la richesse en collemboles. Cet effet significatif est également retrouvé dans les ANOVA à 2 facteurs (Tableau 6.1). A T0, l'ajout de boues industrielles et de biochar diminue l'activité hydrolytique de la FDA par rapport à la modalité TB (Figure 6.3). Dès T1, les paramètres biotiques deviennent significativement similaires à la modalité TB, surtout pour les modalités TB2M et TB3M, selon l'analyse PRC et les analyses statistiques (Tableau 6.1). Selon l'analyse PRC, un fort changement dans les valeurs des paramètres biotiques à T1 est constaté, cet effet est probablement lié au mauvais drainage des parcelles durant le mois d'octobre 2014. A T2, les modalités TB2NM et TB2M ont des paramètres biotiques ayant des valeurs similaires à la modalité TB, selon la PRC et les analyses statistiques. Par contre, la modalité TB3M a des valeurs d'hydrolyse de la FDA éloignées de celle de la modalité TB, selon la PRC et les analyses statistiques. En effet, l'activité d'hydrolyse de la FDA est significativement plus faible dans la modalité TB3M par rapport à la modalité TB. A T3, les valeurs des paramètres biotiques dans la modalité TB2M sont très proches de celle de la modalité TB selon l'analyse PRC et les analyses statistiques. Par contre, la modalité TB3M semble avoir des valeurs biotiques différentes de celle de la modalité TB selon l'analyse PRC mais aucune différence significative n'est observée (Tableau 6.1).

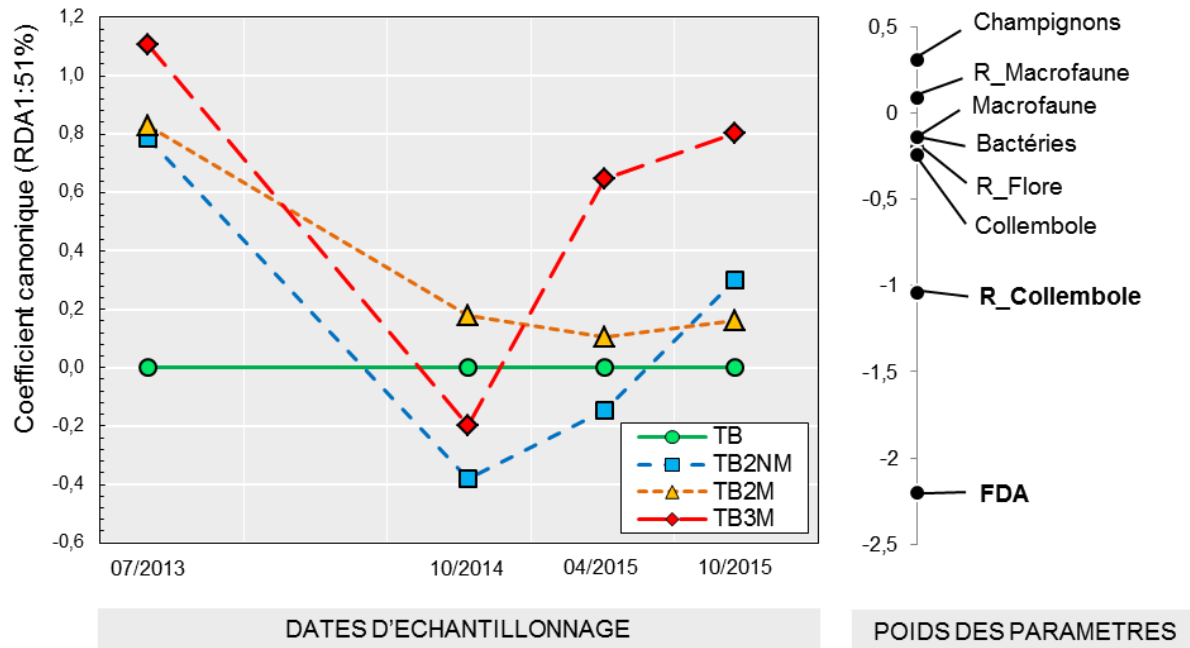


Figure 6.3 : Courbes de réponse principale de l'analyse PRC des quatre modalités de Technosol selon les paramètres biotiques. Le 1^{er} axe indique les différences entre les modalités de Technosols (TB2NM, TB2M et TB3M par rapport au témoin TB) au cours du temps. Le poids des paramètres représente l'affinité des paramètres aux courbes de réponse principale. Seuls les paramètres ayant un poids supérieur à 0,5 ou inférieur à -0,5 sont considérés comme des indicateurs significatifs (en gras). Bactéries=densité bactérienne ; Champignons=densité fongique ; FDA=activité d'hydrolyse de la FDA ; Collembole=densité en collembole ; R_collembole=richesse spécifique en collembole ; Macrofaune=densité de la macrofaune ; R_macrofaune=richesse taxonomique de la macrofaune ; R_flora=richesse taxonomique de la flore herbacée.

III.3. Relations entre les paramètres abiotiques et biotiques dans les quatre modalités du Technosol à T3

L'ACC présentée dans la figure 6.4 permet d'expliquer 62% de la variance totale du jeu de données. Ainsi, les modalités du Technosol sont discriminées selon le 1^{er} axe canonique (38% de la variance), selon l'ordre suivant : TB; TB2NM=TB2M; TB3M, de gauche à droite. La modalité TB est caractérisée par une plus forte richesse taxonomique végétale et en collemboles, une plus forte densité en collemboles et en bactéries ainsi qu'une plus forte activité microbienne globale, associées à une teneur en P disponible plus importante. La modalité TB3M a des caractéristiques opposées, avec une plus forte teneur en MO, en Na, en ETM (Cd, Zn, Pb) et un faible ratio C:N, et les modalités TB2NM et TB2M ont des caractéristiques intermédiaires. Le phosphore disponible pourrait être un facteur limitant dans ce Technosol, notamment pour la croissance des végétaux car les boues industrielles et le biochar ajoutent de la MO pouvant diminuer la disponibilité en P (Menzies et Moody, 2005). De plus, le ratio C/N semblerait être en défaveur d'une activité microbienne optimale. En effet, un rapport C/N élevé entraîne une baisse de l'activité microbienne

et pourrait conduire à une limitation de l'azote pour les plantes (Kaye et Hart, 1997). Les ETM en fortes concentrations dans la modalité TB3M semblent limiter l'installation des organismes car ces éléments sont anti-corrélés aux variables biotiques citées précédemment. La présence d'une importante densité en macrofaune semble être fortement liée à une importante teneur en Mg. Toutefois, il a été montré qu'une augmentation des teneurs en Mg (associée à une augmentation en Ca, Al et du pH) faisait diminuer la densité de la macrofaune dans des sols forestiers (Auclerc *et al.*, 2012). Sur l'ACC, lorsque l'on compare les différents groupes biotiques, les bactéries, les collembolés et la flore sont différenciés en fonction des modalités de Technosols alors que la macrofaune (densité et richesse) ne l'est pas, ce qui est probablement en lien avec la mobilité plus importante de la macrofaune par rapport aux autres organismes ; les macro-invertébrés peuvent ainsi passer plus facilement d'une parcelle de sol construit à une autre.

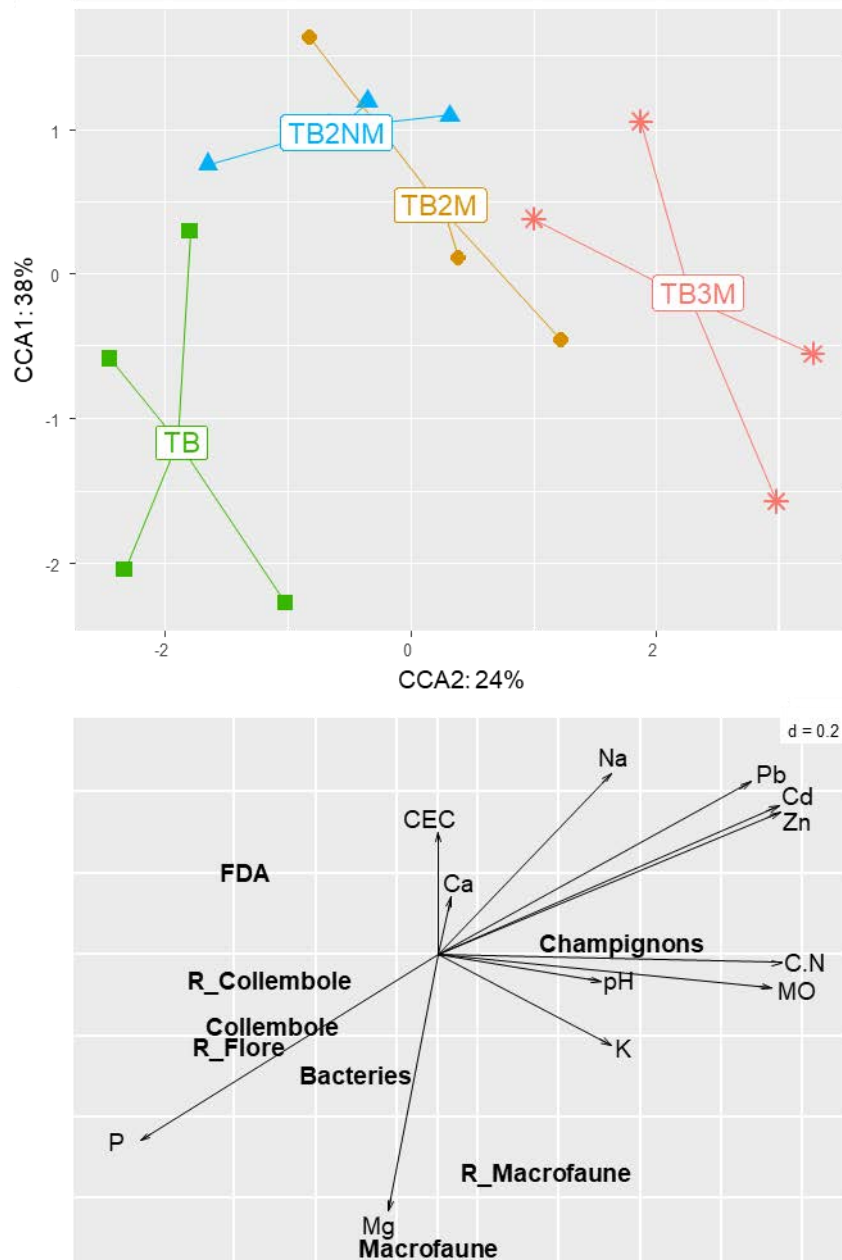


Figure 6.4 : ACC des seize points de prélèvements sur les quatre modalités de Technosols (TB, TB2NM, TB2M et TB3M avec n=4) selon les paramètres biotiques contraint par les paramètres abiotiques.
 [Paramètres abiotiques] : pH=pH à l'eau, CEC=capacité d'échange cationique, P=phosphore Olsen ;
 MO=matière organique ; C.N=ratio C:N ; (Concentrations en) Ca=calcium échangeable ; K=potassium échangeable ; Mg=magnésium échangeable ; Na=sodium échangeable ; Cd=cadmium disponible ; Zn=zinc disponible ; Pb=plomb disponible. [Paramètres biotiques] : Bactéries=densité bactérienne ;
 Champignons=densité fongique ; FDA=activité hydrolytique de la FDA ; Collembola=densité en collembola ;
 R_collembola=richesse spécifique en collembola ; Macrofaune=densité de la macrofaune ;
 R_macrofaune=richesse taxonomique de la macrofaune ; R_flore=richesse taxonomique de la flore herbacée.

III.4. Production de biomasse sur le Technosol

La modalité TB semble être la modalité de Technosol la plus propice à la production de biomasse, mais les conditions agronomiques sont loin d'être optimales. En effet, après 28 mois d'installation, le Technosol TB a des caractéristiques agronomiques peu favorables à la croissance végétale, liées à un pH élevé (8,4 en moyenne), à une faible CEC (9,2 en moyenne) et à de faibles teneurs en nutriments (MO de 2,2% et C:N de 17 en moyenne). La modalité TB3M semble être la modalité du Technosol la moins propice à la production de biomasse car le rapport C/N montre un déséquilibre entre la teneur en MO et en N, immobilisant le N dans la biomasse microbienne et le rendant peu disponible pour les plantes. De plus, les fortes teneurs en ETM peuvent conduire à une phytotoxicité. Un apport en matière organique et en azote sur le long terme pourrait palier à ces insuffisances, par un amendement en compost par exemple. Vingt-huit mois après la construction du Technosol avec ses quatre modalités, la présence de boues industrielles et surtout l'association boues/biochar semblent avoir un effet sur l'installation des organismes dans les sols construits, notamment un effet négatif sur l'activité globale microbienne et positif sur l'abondance fongique. Bien que la fertilité ne soit pas optimale d'après les paramètres physico-chimiques mesurés dans ce Technosol ayant une contamination métallique dans 3 modalités, la culture de plantes telles que le peuplier a été possible mais des différences entre modalité a été observées.

Les peupliers plantés sur TB2NM et TB2M ont une réduction de la hauteur moyenne de 10%, et ceux de TB3M de 25% par rapport à TB (données de croissance annuelle 2015-2016, les données pour 2016-2017 n'ont pas encore été mesurées). En terme de biomasse fraîche (et sèche), les arbres de TB2NM et TB2M ont une réduction de biomasse moyenne de 20%, et ceux de TB3M de 40% par rapport aux plants cultivés sur TB (Blaudez, communication personnelle :). Ces résultats montrent que la modalité présentant du biochar et des boues industrielles est la moins favorable à la production de biomasse. De plus, les teneurs en Pb, Zn et Cd dans les feuilles de peupliers de la modalité TB3M (en moyenne, 24; 897; 45 mg.kg⁻¹ de matière sèche en Pb, Zn et Cd respectivement) sont significativement plus élevées que dans les plants de la modalité TB (en moyenne, 12; 496; 16 mg.kg⁻¹ de matière sèche en Pb, Zn et Cd respectivement). Les feuilles des peupliers des modalités TB2NM et TB2M ont des teneurs en Pb, Zn et Cd intermédiaires (D.Blaudez et C.Berthelot, communication personnelle). Ainsi, il semble que plus les teneurs en ETM dans les sols est élevée, plus les teneurs en ETM dans les feuilles sont élevées. En effet, une relation linéaire entre la teneur en Cd dans les feuilles de peupliers et les teneurs dans le sol a été observée (Robinson *et al.*, 2000). Ainsi, une concentration plus élevée en ETM dans les feuilles de peupliers de la parcelle TB3M est observée, pouvant présenter un risque lors de l'utilisation des plants de peupliers, comme bois de chauffage par exemple. En effet, ces teneurs sont plus importantes que des valeurs mesurées dans des feuilles de peupliers cultivés sur un sol industriel

(environ, 1,5, 500 et 5 mg/kg⁻¹ de matière sèche dans des feuilles de peupliers matures, en Pb, Zn et Cd, respectivement Laureysens *et al.* (2004)).

VII. CONCLUSION

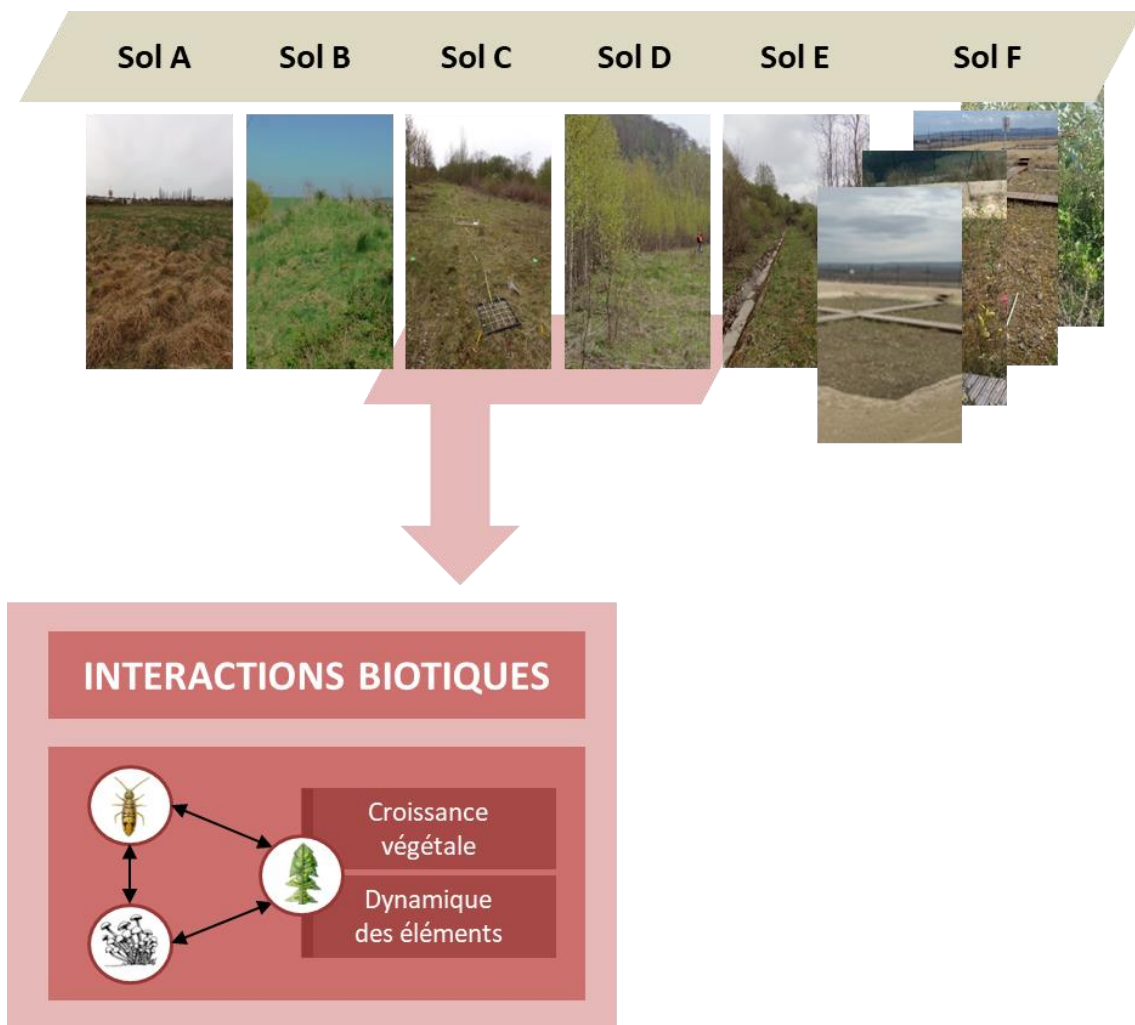
Les paramètres abiotiques du Technosol sont différents en fonctions des modalités. En effet, l'amendement en boues a apporté de nombreux cations basiques, des ETM et de la MO avec une diminution du pH. L'apport du biochar a augmenté la teneur en MO par sa nature chimique et également les concentrations en cations et ETM par son fort pouvoir adsorbant notamment. Toutefois, les cations basiques sont rapidement lessivés, dès les 16 premiers mois. Un lessivage du P est également observable dans la modalité sans boue. Un phénomène de lessivage est également observé pour le Zn et le Cd, mais le phénomène est beaucoup plus lent, montrant une plus faible mobilisation de ces métaux.

Bien que les conditions abiotiques du Technosol soient très contrastées, les paramètres biotiques sont peu différents entre les modalités, excepté l'activité globale microbienne qui est diminuée en présence de boues et de biochar. Les paramètres biotiques semblent être davantage dépendant du temps (colonisation, effet saisonnier et inondations des parcelles) et peu influencés par l'apport de boues et de biochar. Les organismes colonisent rapidement le Technosol, entre 1 et 16 mois en fonction du groupe biotique. Six mois après la plantation des peupliers associée à l'inoculation de champignons mycorhiziens, les racines de peupliers de toutes les modalités sont colonisées par des champignons mycorhiziens à arbuscules, ne permettant pas d'identifier un effet de l'inoculation sur les paramètres abiotiques et biotiques.

Malgré un niveau de fertilité différent et une contamination métallique dans les modalités présentant des boues, une production de biomasse végétale a été possible sur les quatre modalités du Technosol. Une colonisation rapide des organismes permet d'avoir une biodiversité comparable à celle des sols agricoles, environ 2 ans après la construction du Technosol. Une culture de peuplier, présentant une forte colonisation mycorhizienne, a été possible. Ainsi, l'utilisation de sous-produits industriels pour la construction d'un Technosol fonctionnel semble envisageable après 2 ans d'évolution. Un apport d'azote et de MO par l'amendement de compost par exemple, permettrait d'améliorer la culture du peuplier, mais modifierait également l'abondance et la diversité des organismes vivants.

Chapitre 7 :

Interactions champignon mycorhizien à arbuscules - collembole dans deux sols délaissés plantés de ray-grass



Le fonctionnement des sols est dépendant de nombreux facteurs qu'ils soient abiotiques ou biotiques (Karlen *et al.*, 1997; Wienhold *et al.*, 2004). Les organismes vivants comme les plantes, la faune et les micro-organismes, jouent des rôles essentiels dans le cycle des éléments comme le carbone et l'azote ou des éléments en traces (Bannert *et al.*, 2011; Sizmur *et al.*, 2011; Gupta et Diwan, 2016; Frouz, 2017). Toutefois, ces organismes interagissent entre eux, notamment dans la rhizosphère, ce qui influence considérablement certaines fonctions comme la croissance végétale par de nombreux mécanismes (Gliński et Lipiec, 1990; Foy, 1992).

Une des interactions biotiques les plus étudiées est la symbiose entre les plantes et les champignons mycorhiziens à arbuscules (MA). Cette interaction permet à la plante de prélever davantage d'eau et de nutriments, notamment le phosphore (Miransari, 2010; Meier *et al.*, 2012), surtout lorsque les sols sont peu fertiles. De plus, les champignons MA peuvent protéger la plante des effets toxiques des métaux lourds (Joner et Leyval, 1997).

Toutefois, les micro-organismes ne sont pas les seuls organismes présents dans la rhizosphère. La faune, notamment les collemboles, peuvent également agir sur la dynamique des éléments et la croissance végétale (Cole *et al.*, 2004; Endlweber et Scheu, 2007; Ngosong *et al.*, 2014). Certains collemboles se nourrissent de champignons MA, ce qui peut influencer la dynamique des éléments (Seres *et al.*, 2009) et la croissance végétale (Gange, 2000; Kreuzer *et al.*, 2004).

Nous avons vu dans le chapitre 3 que de nombreuses interactions biotiques potentielles existaient dans les sols délaissés étudiés. De plus, nous avons observé une forte colonisation par des champignons MA dans tous les sols et des densités élevées de collemboles dans certains sols (notamment les sols C et D). Ainsi, la question des conséquences fonctionnelles des interactions biotiques entre les plantes, les champignons MA et les collemboles dans les sols délaissés se pose. En effet, dans des sols peu fertiles avec une contamination modérée, les interactions biotiques pourraient avoir des effets significatifs sur certaines fonctions. C'est dans ce contexte que nous avons réalisé deux expériences en laboratoire afin d'étudier les interactions plante - champignon MA - collembole et leurs conséquences sur la densité de ces organismes, sur la croissance et la teneur en éléments minéraux majeurs et en traces de la plante. Deux sols délaissés, différents de par leur origine et leur caractéristiques physico-chimiques, ont été étudiés : un sol de cokerie (sol C) et sol d'un ancien bassin à boues sidérurgique (sol D).

Comme il est reconnu que les conditions expérimentales modifient les interactions biotiques, nous avons considéré le volume de sol ainsi que la durée de l'interaction champignon MA-collembole. Ainsi, une première expérience a été réalisée dans laquelle le collembole *Sinella caeca* a été associé à du ray-grass mycorhizé par *Funneliformis mosseae*, durant 1 ou 1,5 mois, dans 1 ou 3 L de sol C. Dans une seconde expérience, du ray-grass a été inoculé avec le champignon MA et/ou le collembole dans les deux sols délaissés C et D, précédemment stérilisés et réinoculés avec la

microflore du sol sans champignons MA indigènes. Dans les deux expériences, les mêmes paramètres ont été mesurés, après 2 mois de culture : le nombre de collemboles, la densité bactérienne et fongique, la colonisation par les champignons MA, la biomasse des parties aériennes et racinaires et les concentrations en certains métaux dans les deux parties de la plante.

Nous avons montré que le volume de sol, la durée de l'interaction entre les organismes et le type de sol modifient fortement les interactions entre le champignon MA, le collembole et le raygrass. Tout d'abord, l'influence du collembole sur la dynamique des métaux et la croissance végétale dépend du volume de sol. Dans les pots de 1L, la présence du collembole fait augmenter la biomasse racinaire du ray-grass. Cependant, cet effet est observé uniquement lorsque les collemboles sont présents dans les pots durant 1,5 mois. Dans le sol C, la teneur en K diminue et la teneur en Mg augmente dans les racines, en présence de collemboles lorsque les champignons MA sont absents. Les propriétés physico-chimiques des sols modifient également les interactions biotiques car une augmentation de la colonisation des champignons MA a été observée en présence du collembole dans le sol D uniquement.

Finalement, dans notre étude, la présence simultanée du collembole et du champignon MA n'a modifié ni la croissance végétale, ni les concentrations en éléments dans la plante. La mortalité des collemboles constatée dans certaines conditions, ainsi que la faible colonisation mycorhizienne dans les deux sols stérilisés ont probablement limité les effets des interactions biotiques. De plus, la présence d'autres types de champignons (comme les champignons saprophytes) comme autre ressource nutritive pour les collemboles doit être considérée. Enfin, d'autres expériences doivent être menées pour mieux comprendre les interactions biotiques dans les sols délaissés pour envisager l'utilisation d'organismes dans des stratégies de réhabilitation.

Interactions between an arbuscular mycorrhizal fungus and a Collembola in two derelict soils planted with ryegrass.

I. INTRODUCTION

Soil functioning and soil quality are affected by abiotic and biotic parameters (Karlen *et al.*, 1997; Wienhold *et al.*, 2004). Several organic and mineral elements drive the presence and activity of soil living organisms (Leyval *et al.*, 1997; Gomez *et al.*, 2006; Auclerc *et al.*, 2012). Simultaneously, cycles of major elements like carbon or nitrogen or trace mineral elements, are driven by the activity of organisms such as plants, fauna and microflora (Bannert *et al.*, 2011; Sizmur *et al.*, 2011; Gupta and Diwan, 2016; Frouz, 2017). The abiotic-biotic interactions alter in turn biological functions, as the plant growth and plant biomass production (Gliński and Lipiec, 1990; Foy, 1992). The effects of biotic interactions are then crucial to a better understanding of soil functioning (Hooper *et al.*, 2000; Wardle, 2006; Bardgett and Wardle, 2010). For instance, plant, microflora and fauna interacting in the rhizosphere affect plant growth by a variety of mechanisms (Gange, 2000; Innocenti *et al.*, 2009). Moreover, top-down interactions such as predation can have indirect effects on ecotoxicity of organic pollutants (Relyea and Mills, 2001; Relyea, 2003).

One of the most studied biotic interactions is the symbiotic relationship between plant roots and Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF). Almost 90% of terrestrial plants live with AMF (Harley and Smith, 1983). AMF improve plant growth and water and nutrient uptake, in particular that of phosphate, and also of other nutrients, such as zinc and copper, crucial for plant growth. This facilitation of water and phosphate uptake is particularly clear in stress situations (Miransari, 2010; Meier *et al.*, 2012). On average, plants colonized by AMF grow 3.1 times larger than non-colonized plants (Hoeksema *et al.*, 2010). Other elements, considered as toxic, can be taken up by plant through AMF. For example, metallic trace elements like Cd may be transported by AMF hyphae (Guo *et al.*, 1996). However, hyphae may also constitute a biological barrier against transfer of toxic concentration of metals to the shoot (Joner and Leyval, 1997). Many studies showed that AMF can reduce excess plant uptake of metallic trace elements (Zn, Cd and Mn; Gaur and Adholeya, 2004; Heggo *et al.*, 1990), although others showed enhanced uptake or no effect

(Zn, Pb, Ni, and Cu; Guo *et al.*, 1996; Weissenhorn *et al.*, 1995). Existing results on the interactions between AMF and plants are variable but AMF seem to benefit plant growth in stressed environments (Miransari, 2010). Moreover, in plant rhizosphere, AMF interact with other soil organisms such as bacteria (Artursson *et al.*, 2006) or pathogenic fungi (Berg *et al.*, 2006). They may also interact with soil fauna, that can modify element cycles, nitrogen notably, and consequently plant growth (Lussenhop and BassiriRad, 2005; Bonkowski *et al.*, 2009).

Collembola are one of the most abundant micro-arthropods in soils. They feed on a range of materials, including decomposing vegetation, bacteria, and fungi (Hopkin, 1997). Thus, they play an important role in decomposition, microbial regulation, and then nutrient cycling processes. It has been shown that Collembola enhance nitrogen mineralization directly through feces formation (Kaneda and Kaneko, 2011) that increase the content of nitrogen and phosphorous in plant shoots (Bardgett and Chan, 1999; Scheu *et al.*, 1999; Lussenhop and BassiriRad, 2005). Plant root growth is also altered by the activity of Collembola depending on study conditions (Cole *et al.*, 2004). For example, in presence of Collembola, the root volume of *Epilobium adnatum* was decreased (Endlweber and Scheu, 2006) and the shoot/root ratio of *Poa annua* was increased (Scheu *et al.*, 1999).

In soils, AMF and certain species of Collembola both live in the rhizosphere. Thus, their interactions could affect nutrient cycles and plant growth. Collembola, such as *Folsomia candida*, *Proisotoma minuta*, *Onychiurus ambulans* and *Sinella caeca*, graze on hyphae and spores of AMF (Moore *et al.*, 1985; Larsen and Jakobsen, 1996; Gange, 2000; Posta and Bakonyi, 2008), and this may significantly alter plant growth (Gange, 2000; Kreuzer *et al.*, 2004). This Collembola grazing effect depends on their density (Gange, 2000), since mycorrhizal plant growth has been showed as improved in presence of intermediary density of Collembola, due to an increased AMF hyphae colonization (Klironomos and Kendrick, 1996). Thus, the nutrient uptake by plant was increased, since the soil exploration by hyphae was enhanced (Hättenschwiler *et al.*, 2005). But this pattern was not observed at higher or lower Collembola density. At low density, AMF are not grazed enough, whereas at high density AMF become heavily grazed. Using ¹⁵N labelling, Seres *et al.* (2009) showed for instance that nitrogen content of mycorrhizal maize plants was significantly lower in the presence of the Collembola *Sinella caeca*. In another study, the presence of Collembola favored phosphorous uptake in roots colonized with AMF (Ngosong *et al.*, 2014).

The interactions between biotic compartments has been showed as influenced by some other factors. Plant-mycorrhizal fungi interactions depend on exploitation of non-rhizosphere soil by extra-radical AMF hyphae for nutrient plant acquisition (Jakobsen *et al.*, 1994). In this context, Audet and Charest (2010) reported that soil volume is a key experimental factor that, when

limited, can significantly reduce AMF colonization. In experimental conditions, if plants are in small pots, the soil is efficiently scavenged for nutrients by roots, and no additional effect can be expected from AMF (Baath and Hayman, 1984). Volume of soil also change metallic trace element uptake, like Cd, Zn and Cu (Leyval and Joner, 2001). This effect is linked to available pools of these metals which are depleted in the small pots. As a consequence, soil volume influences plant growth directly, through available nutrient pool, and indirectly through modifications of AMF symbiosis. Modifications of growth due to different experimental pot size have been measured for root and shoot (Leyval and Joner, 2001; Audet and Charest, 2010) and have to be considered in experimental conditions.

Derelict soils are unmanaged and underused often due to low fertility and potential contamination (Wong and Bradshaw, 2002; G Séré *et al.*, 2008). They have recently attracted increased attention, because they might be considered as a potential resource (Anderson and Minor, 2017), for example for non-food biomass production (Wilschut *et al.*, 2013; Lord, 2015). We recently showed that plants growing on derelict soils were highly colonized by AMF (Vincent *et al.*, 2018). AMF inoculation might then be considered to improve revegetation of derelict soils (Wong and Bradshaw, 2002; Wardle *et al.*, 2004). Moreover, Collembola were sampled in derelict soils, in higher densities than that in meadows or urban soils (Vincent *et al.*, 2018), and some AMF grazing species as *Proisotoma minuta* (Siddiky *et al.*, 2012) have high density in the 6 derelict soils.

Thus, we hypothesized that AMF-Collembola interactions might increase directly or indirectly plant biomass production and nutrient uptake. The objectives of our experiments were then to study the effect of the interactions between the Collembola *Sinella caeca* and the AMF *Funneliformis mosseae* on the growth and mineral element uptake in ryegrass in two derelict soils characterized by low fertility and moderate contamination level. Since the experimental conditions are known to affect biotic interactions, we considered the soil volume explored by roots and microorganisms and the time of interaction between both organisms. Two experiments were performed. In the first one, the Collembola was added to AMF inoculated ryegrass in a derelict soil with two interaction durations and two different soil volumes. In the second one, ryegrass was inoculated with the AMF and/or the Collembola in two derelicts soils, differing in their fertility characteristics and contaminant concentrations, previously sterilized to eliminate indigenous biodiversity.

II. MATERIALS AND METHODS

II.1. Experimental setup

II.1.1. Soils of derelict sites

Two soils were sampled on former industrial sites of the north-east of France (Vincent *et al.*, 2018). Both are Spolic Technosol (IUSS Working Group WRB, 2014). One of the soils was collected from a former coking plant site and was referred to as “coking plant” soil (named soil C in the thesis manuscript). The other one was collected from a former settling pond site, and named “settling pond” soil (named soil D in the thesis manuscript). Soil samples were air dried and sieved to 2 mm. Soil physico-chemical characteristics are presented in Table 7.1 and methods used for analyses of these characteristics are mentioned in Vincent *et al.* (2018). These soils have a high pH, a moderate contamination (metallic and organic contamination) and a low fertility. They differed according to nitrogen, exchangeable cations (Ca^{2+} , K^{+} and Na^{+}) and contaminant concentrations (Pb and Zn).

Table 7.1: Localization, physico-chemical characteristics and pollutant concentrations of the two soils from derelict sites. *Mean*±*SD* (*n*=5). *HPLC*=*high performance liquid chromatography*. See Vincent *et al.* 2018 for more details.

	Soils		Methods
	Coking plant	Settling pond	
Informations			
Name	C soil : Homécourt	D soil : Moyeuvre-Petite	
Localization (Lambert 93 - m)	E:918487 N:6905891	E:920222 N:6911528	
Fertility parameters			
Texture	Loamy sand	Sandy loamy	NF X 31-107
Water Holding Capacity (%)	63±5	58±4	NF ISO 11267
Cation exchange capacity (cmol ⁺ .kg ⁻¹ dry soil)	17.2±1.8	11.3±0.7	NF X 31-130
pH	7.9±0.1	8.4±0.2	NF ISO 10390
Olsen Phosphorus (mg.kg ⁻¹ dry soil)	39±16	44±10	NF ISO 11263
C:N	26±5	65±20	NF ISO 10694
N (%)	0.38	0.13	NF ISO 10694
Organic Matter (‰)	16.7±6.3	13.3±2.8	NF ISO 10695
Ca _{exchangeable} (mg.kg ⁻¹ dry soil)	903±405	2031±240	NF X 31-130 and NF ISO 22036
K _{exchangeable} (mg.kg ⁻¹ dry soil)	155±36	377±30	
Mg _{exchangeable} (mg.kg ⁻¹ dry soil)	103±6	312±47	
Na _{exchangeable} (mg.kg ⁻¹ dry soil)	11±3	42±11	NF EN 16174 and NF ISO 22036
Ca _{total} (g.kg ⁻¹ dry soil)	99±15	159±9	
K _{total} (g.kg ⁻¹ dry soil)	1.9±0.5	3±0.3	
Mg _{total} (g.kg ⁻¹ dry soil)	5.7±0.6	14.6±0.9	
Na _{total} (g.kg ⁻¹ dry soil)	0.41±0.04	0.88±0.07	

Pollutants			
Cd _{available} (mg.kg ⁻¹ dry soil)	0.16±0.05	0.15±0.01	NF EN 13651 and NF ISO 22036
Pb _{available} (mg.kg ⁻¹ dry soil)	46±14	18±5	NF EN 13651 and NF ISO 22036
Zn _{available} (mg.kg ⁻¹ dry soil)	45±20	25±6	NF EN 16174 and NF ISO 22036
Cd _{total} (mg.kg ⁻¹ dry soil)	0.1±0.7	1.4±0.1	NF EN 16174 and NF ISO 22036
Pb _{total} (mg.kg ⁻¹ dry soil)	346±106	339±50	NF EN 16174 and NF ISO 22036
Zn _{total} (mg.kg ⁻¹ dry soil)	1162±396	1196±122	HPLC
Σ16 PAH (US-EPA) (mg.kg ⁻¹ dry soil)	179±136	97±54	

II.1.2. Plant, AM fungus and Collembola: model organisms

Ryegrass (*Lolium multiflorum* (Lamk) var. Podium) was used in both experiments. The seeds were pre-germinated for 3 days on autoclaved humidified vermiculite substrate, in the dark and at 24°C. Subsequently, five seeds were planted in each pot and were thinned to four plants per pot after emergence.

The mycorrhizal inoculum of *Funneliformis mosseae* (T.H. Nicolson and Gerd.) (Schüßler and Walker, 2010) BEG 69 (Vandenkoornhuyse and Leyval, 1998) was obtained from permanent cultures of mycorrhizal leek (*Allium porrum* L.) in our laboratory. This AM fungus was initially isolated from a metal-polluted soil (Weissenhorn *et al.*, 1993). AMF spores were collected from the soil of six month old mycorrhizal leek cultures by wet sieving and centrifugation in 50% sucrose solution (Walker *et al.*, 1982). Two hundred spores of *F. mosseae* were added per pot for treatments with mycorrhizal plant. They were added on the ryegrass roots directly after planting.

Adults of euedaphic Collembola *Sinella caeca* (Schött, 1896) species coming from laboratory breeding (NF EN ISO 11267) were used for experiments. This Collembola species is a synanthropic species associated with human activities (Hopkin, 2007). Individuals were placed for 7 days in 2 g of each of the studied soils, moistened up to 80% of the holding water capacity, for acclimation to the soil conditions. For each treatment with Collembola, 30 individuals were added, no matter the soil volume, 2 or 4 weeks after plantation (and AMF inoculation for treatments with mycorrhizal plant).

II.2. Experimental designs and greenhouse conditions

II.2.1. Experiment 1

Two pot sizes were used to provide different soil volumes: 1L (12×9 cm, d×h) and 3L (15×16 cm, d×h). Inside each pot, a plastic bag was introduced so that the bag exceeds 20 cm, to prevent the organisms to escape, the water to leach and to support long leaves. These bags were filled with

1.05±0.02 or 2.47±0.49 kg dry and unsterilized coking plant soil. In this experiment, all the pots were planted with ryegrass and inoculated with 200 AMF spores. Collembola were added 15 or 30 days after planting, so that they were in contact with the AMF inoculated plants for 1 or 1.5 months. Four replicates were done per treatment (2 soils, 2 pot size, time of interaction treatment). The pots were weighed and soils were watered with deionized-water three times a week to maintain soil humidity at 80% of the water holding capacity. The pots were kept for 60 days in a growth chamber with 16 h of light with 250 $\mu\text{mol.photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ and 22°C, and 8 h of darkness at 18°C, and 80% of air humidity (day and night).

II.2.2. Experiment 2

In the second experiment, only 1L pots were used with the same plastic bag devices. The pots were filled with either coking plant or settling pond soil which had been sterilized by γ -irradiation (25 kGy, Ionisos society, France). The irradiated soil was re-inoculated with the indigenous microflora by adding a suspension of the non-sterile corresponding soil (10 g in 90 ml sterile distilled water) filtered at 5 μm to exclude mycorrhizal propagules (Redon *et al.*, 2009). Each pot received 10 mL of the filtered suspension. The soil was planted with ryegrass seeds and four treatments were carried out with five replicates: non inoculated, AMF inoculated, Collembola inoculated, and AMF+Collembola inoculated soils. The Collembola organisms were added to the pots after 15 days so that they interacted with the plants (mycorrhizal or not) for 1.5 month. The pots were placed in the same growth chamber and watered as in the experiment 1.

II.3. Sampling and analytical procedures

II.3.1. Sampling methods

At the end of both experiments, the plastic bag was removed from the pots and cut to collect the soil block. The soil block was shaken in a plastic box to remove the bulk soil while capturing Collembola. An aliquot of rhizospheric soil was sampled for microbial analysis (stored at -20°C) and the remaining soil was placed in the plastic box with the root system. Then, shoots were cut. The soil and roots placed in the plastic box were submerged with water. After gentle stirring the suspension with a spatula, Collembola individuals drift to the water surface and were picked up to be stored at 4°C before to be counted (NF EN ISO 11267). The roots were washed, cut in 1 cm segments and 30 root segments were picked up randomly and stored in 50% ethanol solution for estimation of AMF colonization.

II.3.2. Microbial and fauna analyses

Nucleic acids were extracted from 0.5 g of fresh soil with the FastDNA SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals), and suspended in 100 µl of DES (Dnase-Free water). Total DNA concentrations and quality (purity ratio A260/A280) were measured using a spectrophotometer (UV1800, Shimadzu) equipped with a TrayCell unit (Hellma). Bacterial and fungal density in each mesocosm of both experiments was estimated using real-time PCR (Polymerase Chain Reaction) quantification of 16S rRNA and 18S rRNA gene copies according to Cébron *et al.* (2008) and Thion *et al.* (2012) respectively. The primer sets 968F/1401R (Felske *et al.*, 1998a) and Fung5F/FF390R (Lueders *et al.*, 2004) were used for bacteria and fungi, respectively. Amplification reactions were carried out in a 20 µL volume, using the iQ SYBR green SuperMix (Bio-Rad) and the quantification was performed using an iCycler Optical System (Bio-Rad). AMF colonization was estimated on 30 root segments (1 cm) per plant, that were stained with Trypan blue according to Koske and Gemma (1989) and scored for percent of arbuscular mycorrhizal colonization as described by Trouvelot *et al.* (1986). Number of collembola sampled in each pot was counted under binocular microscope (50×).

II.3.3. Plant biomass and major and trace element concentrations analyses

Harvested shoots and roots were dried in an oven for 72 h at 70°C, weighed and ground before digestion. A mix of 2.5 mL of HNO₃ (14.7 mol.L⁻¹) and 5mL of H₂O₂ (12.7 mol.L⁻¹) was added to 50 mg of plant dry matter. After 16 h at 20°C, the mix was heated at 95°C for 2h. The mix was filtered (0.45 µm) and the extract was adjusted to 10 mL with deionized water. Calcium, K, Mg, P, S, Fe, Zn, Pb, and Cd extractable concentrations in the extract were determined by Inductively Coupled Plasma with Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES) (ISO 22036).

II.4. Statistical analysis

To study differences between treatments, after checking normality and variance homogeneity using Shapiro Wilk's test and Bartlett's test, two-way ANOVA was performed (effect of soil volume and interaction duration for the experiment 1 and effect of presence of AMF or Collembola for each soil, for the experiment 2). This test was followed by Tukey's HSD test for paired comparison. Relationship between mycorrhizal colonization and ryegrass root density was tested by correlation between raw data and logarithmic model by the lmttest package in R (Hothorn *et al.*, 2015). Significant differences were considered for P<0.05. R Software (version 3.1.3, Development Core Team, 2015) was used for tests.

IV. RESULTS

IV.1. Experiment 1: Effects of soil volume and Collembola presence on mycorrhizal ryegrass growth and mineral element uptake

IV.1.1. Biomass and major and trace element concentrations in ryegrass

The shoot biomass was significantly affected by the soil volume while there was no significant effect of the addition of Collembola (Figure 7.1). The shoot biomass was significantly higher in the 3L pots compared to the 1L pots ($P < 0.001$). The addition of Collembola (1 and 1.5 month compared to “no collembola” treatments) did not significantly affect the shoot biomass ($P = 0.25$). However, the root biomass was significantly higher in 1L pots, when the Collembola were added to the mycorrhizal plant for the longest period (1.5 month) compared to the other treatments in 1L pots ($P = 0.04$).

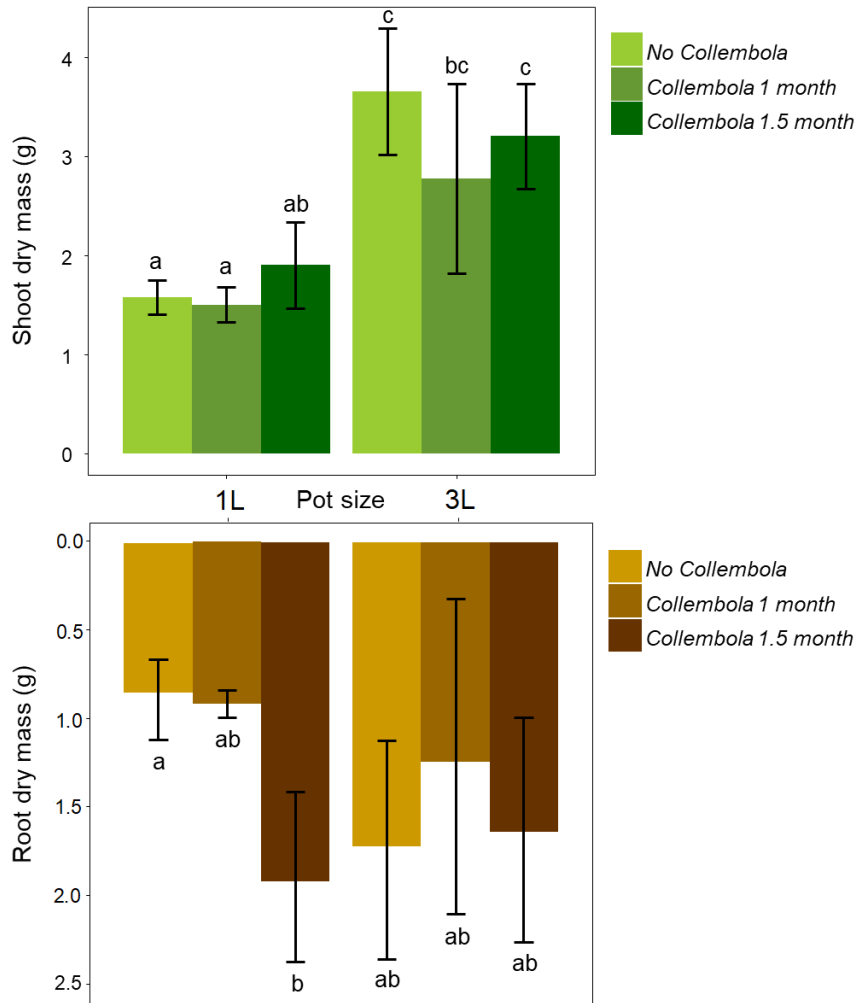


Figure 7.1: Shoot (top graph, in green) and root (down graph, in brown) biomass of mycorrhizal ryegrass in 1L or 3L pots filled with coking plant soil, without Collembola (No collembola) or with Collembola during 1 (Collembola 1 month) or 1.5 month (Collembola 1.5 month) in experiment 1. *Mean*±*SD*, *n*=4. Two ways ANOVA test and Tukey's HSD post-hoc test for both biomasses. Different letters mean significant differences ($P < 0.05$).

The concentration of 5 mineral elements out of 18 measured in shoots or roots were modified by soil volume or time of interaction (Table 7.2). In shoots, S, Fe and Pb concentrations were significantly higher in 3L than in 1L pots. In roots, K and Fe concentrations differed according to the time of interaction but depended on soil volume. The K root concentration was higher in treatments without Collembola compared to the ones with Collembola during 1 month, but only in the 1L pots. The Fe root concentration was lower in treatments without Collembola compared to ones with Collembola during 1.5 month in 1L pots. In 3L pots, the Fe root concentration was lower in pots with Collembola during 1 month compared to those with Collembola during 1.5 month

Table 7.2 : Major and trace element concentrations in ryegrass shoots and roots at the end of experiment 1 in 1L or 3L pots filled with coking plant soil, without Collembola (no Coll) or with Collembola during 1 or 1.5 month (Coll. 1 month; Coll. 1.5 months), in experiment 1. *Mean±SD, n=4. Results of the two ways ANOVA are shown for pot size effect, presence of Collembola, and interaction of parameters and Tukey's HSD post-hoc test. Only P<0.05 are mentioned.*

		Major elements (g.kg ⁻¹ dw)							Trace elements (mg.kg ⁻¹ dw)			
	Soil volume	Interaction	Ca	K	Mg	P	S	Fe	Zn	Pb	Cd	
Shoot	1L	no Coll.	5.25±0.92	32.8±4.8	1.33±0.22	3.01±0.56	2.44±0.23 b	0.17±0.11 b	28±10	0.5±0.2 b	0.02±0.02	
		Coll. 1 month	4.70±0.27	28.9±0.7	1.06±0.1	2.34±0.16	2.17±0.1 b	0.31±0.21 ab	35±4	1.0±0.8 ab	0.05±0.02	
		Coll. 1.5 month	6.24±1.55	29.1±5.6	1.17±0.1	2.60±0.55	2.53±0.88 b	0.17±0.02 b	36±7	0.6±0.2 b	0.02±0.01	
	3L	no Coll.	6.42±2.25	37.8±15.9	1.05±0.42	2.96±1.13	4.86±1.66 a	0.44±0.27 ab	32±7	1.2±0.8 ab	0.05±0.03	
		Coll. 1 month	5.78±2.82	38.7±19.3	1.00±0.47	2.94±1.44	4.84±2.97 a	1.07±1.66 ab	34±21	2.1±2.8 ab	0.07±0.1	
		Coll. 1.5 month	6.12±1.00	38.2±6.1	1.03±0.33	3.13±0.8	5.21±0.53 a	0.80±0.4 a	35±8	2.2±1.3 a	0.06±0.03	
P-value	Soil volume							0.002	0.015	0.049		
	Time of interaction											
	Soil volume× Time of interaction											
		Major elements (g.kg ⁻¹ dw)							Trace elements (mg.kg ⁻¹ dw)			
	Soil volume	Interaction	Ca	K	Mg	P	S	Fe	Zn	Pb	Cd	
Root	1L	no Coll.	10.7±4.1	9.34±1.66 a	1.2±0.24	1.83±0.24	1.25±0.27	11.0±4.5 c	182±35	44±7	1.4±0.4	
		Coll. 1 month	21.4±11.5	5.10±1.39 b	1.88±0.69	1.61±0.46	1.11±0.28	29.2±21.7 ab	305±191	98±72	2.5±1.5	
		Coll. 1.5 month	19.1±6.6	6.73±1.97 ab	1.57±0.22	1.58±0.17	1.16±0.16	25.7±12 b	245±59	81±31	2.2±0.7	
	3L	no Coll.	18.9±10.3	6.11±0.68 ab	1.76±0.8	1.68±0.52	1.25±0.40	25.2±16.6 ab	277±148	101±43	2.5±0.8	
		Coll. 1 month	13.4±3.7	8.67±1.38 ab	1.63±0.45	1.91±0.21	1.48±0.08	19.4±7.6 bc	238±68	92±41	1.9±0.4	
		Coll. 1.5 month	20.8±5.1	5.66±2.78 ab	1.88±0.46	1.7±0.39	1.34±0.41	33.2±9.3 a	327±57	164±77	2.8±0.7	
P-value	Soil volume											
	Time of interaction											
	Soil volume× Time of interaction	0.003				0.0023						

IV.1.2. AMF and Collembola growth

No Collembola were found in non-inoculated pots. The number of Collembola individuals per pot after one month of interaction in 1L and 3L pots was lower in average than the initially added number. But the abundance of Collembola increased between 1 and 1.5 month although the increase was significant only in the 1L pots (Table 7.3). The frequency of colonized roots by AMF and the abundance of arbuscules in root system were significantly higher in 1L pots compared to 3L pots (around 2.3 times higher), but no significant differences were observed when Collembola individuals were added. A non-linear relationship (logarithmic) was observed between AMF colonization and ryegrass root density ($P < 0.001$, $R^2 = 0.50$) (Figure 7.2). This relationship was non-linear because the mycorrhizal colonization could not be above 100% of AMF colonization. Bacteria and fungi densities in rhizosphere soil were not modified by soil volume and by the addition of Collembola (Table 7.3).

Table 7.3 : Number of Collembola per pot, root mycorrhizal colonization and bacteria and fungi densities in 1L or 3L pots filled with coking plant soil, without Collembola (no coll) or with Collembola during 1 or 1.5 month (Coll. 1 month; Coll. 1.5 months) in experiment 1. *Mean±SD, n=4. Two ways ANOVA test and Tukey's HSD post-hoc test. Statistics results are show for size pot effect, interaction duration effect, and interaction of both parameters. Different letters mean significant differences ($P < 0.05$).*

Soil volume	Interaction	Number of Collembola per pot*	Mycorrhizal colonization (frequency of colonized roots - %)	Arbuscular abundance (in root system - %)	Bacteria density (log 16S DNAr gene copy number $10^8 \cdot g^{-1}$ dry soil)	Fungi density (18S DNAr gene copy number $10^8 \cdot g^{-1}$ dry soil)
1L	no Coll.	0	73±13 a	8.0±3.9 a	10.5±0.2 a	3.2±0.9 a
	Coll. 1 month	16±6 a	82±9 a	9.9±4.8 a	10.7±0.1 a	3.5±0.9 a
	Coll. 1.5 month	52±21 b	79±9 a	8.9±0.6 a	10.6±0.1 a	2.4±0.5 a
3L	no Coll.	0	37±13 b	1.6±0.9 b	10.6±0.1 a	3.3±0.9 a
	Coll. 1 month	17±5 a	30±22 b	0.8±1.5 b	10.7±0.1 a	3.1±0.6 a
	Coll. 1.5 month	25±19 ab	34±19 b	1.2±2.2 b	10.7±0.0 a	3.5±1 a

*ANOVA performed on dataset without "No collembola" condition.

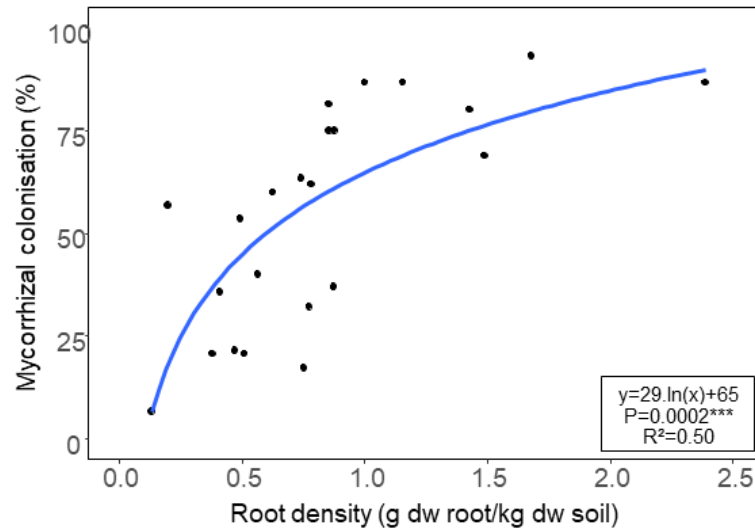


Figure 7.2 : Logarithmic relationship between mycorrhizal colonization and ryegrass root density in the coking plant soil, harvested after 2 month of crop growth in experiment 1. *Statistical test was performed by linear model between logarithm model and raw data.*

IV.2. Experiment 2: Effect of AMF and/or Collembola inoculation on ryegrass growth and mineral element uptake in two derelict soils

IV.2.1. Biomass and major and trace element concentrations in ryegrass

In this second experiment, two soils were used. Biomass production (root and shoot) was higher in the coking plant than in the settling pond soil (around two times) (Figure 7.3). No effect of AMF or Collembola inoculation or both on ryegrass biomass was observed ($P < 0.05$ in all cases). In the coking plant soil, the inoculation of Collembola significantly decreased K concentration compared to soil without organism inoculation. The inoculation of Collembola significantly increased Mg concentration in roots compared to plants without organism inoculation (Table 7.4). In the settling pond soil, the presence of Collembola increased S concentration in shoots, independently of AMF inoculation.

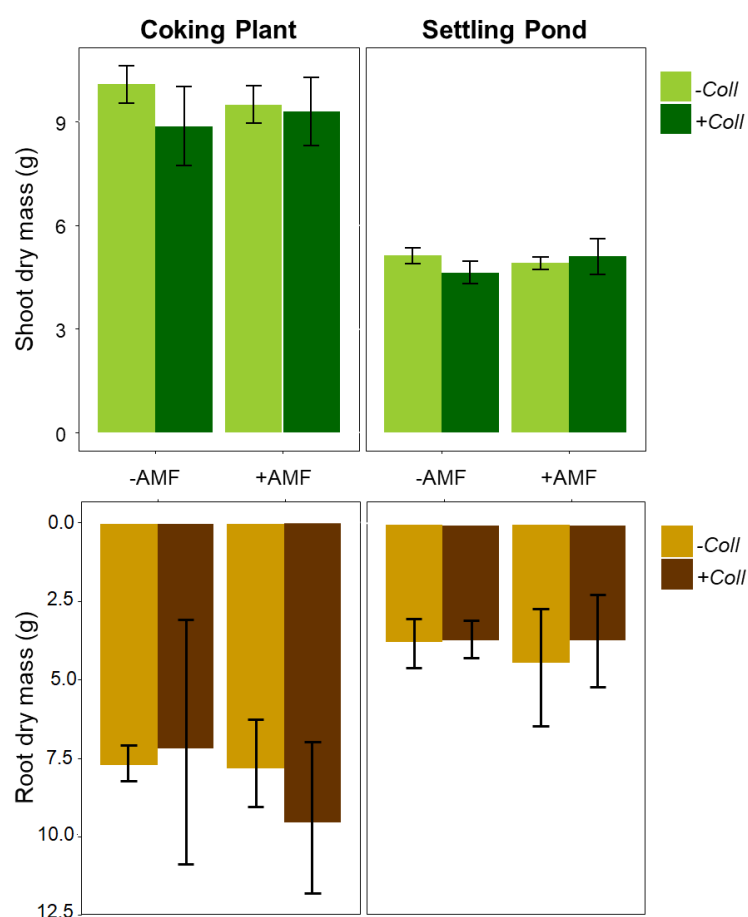


Figure 7.3 : Shoot (top graph, in green) and root (down graph, in brown) biomass of ryegrass in 1L pots filled with coking plant or settling pond soil, with (+AMF) or without (-AMF) AMF and with (+Coll) or without (-Coll) Collembola during 1.5 month. Mean $\pm$ SD, n=5 in experiment 2. Two ways ANOVA test and Tukey's HSD post-hoc test for shoot biomass ($P < 0.05$). No statistical differences were observed.

Table 7.4 : Major and trace elements in ryegrass shoots and roots in 1L pots filled with coking plant or settling pond soil, with (+AMF) or without (–AMF) AMF and with (+Coll) or without (–Coll) Collembola during 1.5 month, in experiment 2. *Mean±SD, n=5. LQ: Limit of quantification. Two ways ANOVA test. Results of the two-way ANOVA are shown for the effect of AMF, Collembola and their interaction and Tukey's HSD post-hoc. Only p<0.05 are mentioned.*

				Major elements (g.kg ⁻¹ dw)						Trace elements (mg.kg ⁻¹ dw)		
				Ca	K	Mg	P	S	Fe	Zn	Pb	Cd
Shoot	Coking plant	-AMF	-Coll	6.6±1.1	12.6±1.9	1.3±0.2	1.5±0.1	1±0.2	3.1±3.3	53±17	4.7±6.1	<LQ
			+Coll	6.3±1.3	13.9±3	1.3±0.2	1.7±0.2	1.1±0.3	1.6±1	45±4	2.9±1.5	<LQ
		+AMF	-Coll	6.3±1.3	15.9±5.3	1.4±0.5	1.8±0.4	1.3±0.8	1.2±0.6	52±13	2.4±0.8	<LQ
			+Coll	6±0.7	14.1±2.2	1.4±0.1	1.6±0.1	1±0.1	0.6±0.2	47±8	1.4±0.5	<LQ
	Settling Pond	-AMF	-Coll	5.5±1.2	19±2.6	1.7±0.3	1.9±0.1	0.9±0.2	1.3±0.9	50±7	3.9±2.1	<LQ
			+Coll	6±0.7	20.6±0.8	1.9±0.2	2±0.1	1±0.2	1.3±0.6	59±18	5.2±2.5	<LQ
		+AMF	-Coll	5.1±0.9	20.5±0.9	1.7±0.3	1.9±0.2	0.8±0.1	1±0.4	46±4	3.8±1.4	<LQ
			+Coll	5.9±1.1	22.4±3.2	1.8±0.3	2±0.4	1±0.2	1.7±1	50±17	5.5±2.5	<LQ
Root	Coking plant	-AMF	-Coll	18.7±5.3	3.8±0.7 a	1.5±0.4 b	1.2±0.1	0.7±0.1	21.4±7.6	111±22	51±46	0.6±0.2
			+Coll	28.5±12.2	2.6±0.4 b	2.3±0.7 a	1.3±0.3	1±0.2	32.9±16.1	174±85	54±29	0.7±0.2
		+AMF	-Coll	20.2±11.5	3±0.5 ab	1.6±0.5 ab	1.2±0.2	0.9±0.2	21.8±9.5	139±41	39±12	0.7±0.2
			+Coll	27.4±10.6	2.7±0.5 a	2.1±0.5 a	1.3±0.1	0.9±0.2	32.7±12.6	194±95	101±86	0.7±0.1
	Settling Pond	-AMF	-Coll	20.3±3.1	9.7±1.8	2.6±0.3	1.9±0.2	0.9±0.1	9.9±3.8	164±42	32±11	0.7±0.1
			+Coll	28.1±11.1	9.8±0.6	3.4±1.1	2.3±0.4	1±0.1	15.5±7.9	376±401	52±25	4.4±7.7
		+AMF	-Coll	37.8±28.3	8.3±1.7	4.2±2.8	2.3±1.1	1±0.2	18.9±14.6	253±123	60±42	0.8±0.3
			+Coll	29.6±16.2	9.2±1	3.4±1.6	2.3±0.6	1±0.1	20±14.4	273±125	62±31	1±0.3

P-value of two ways ANOVA test			Ca	K	Mg	P	S	Fe	Zn	Pb	Cd	
Shoot	Coking plant	Coll										/
		AMF										/
		Coll×AMF										/
	Settling Pond	Coll										/
		AMF										/
		Coll×AMF										/
Root	Coking plant	Coll		0.014	0.031							
		AMF										
		Coll×AMF										
	Settling Pond	Coll										
		AMF										
		Coll×AMF										

IV.2.2. AMF and Collembola growth

No Collembola were observed and no AMF hyphae were visible in root fragments in the corresponding non-inoculated pots (Table 7.5). The number of Collembola did not significantly differ between treatments and their number did not increase during the experiment. The AMF inoculation did not significantly modify the Collembola density. The AMF colonization level, estimated by the frequency of colonized roots, was generally very low, except in the settling pond soil when Collembola were inoculated, where it reached 20% of colonization. The frequency of AMF arbuscules in roots and the bacterial density did not significantly differ between the different treatments, while fungal density was below detection limit in both soils.

Table 7.5 : Number of Collembola per pot, mycorrhizal infestation and bacteria and fungi densities in 1L size pot full of ionized coking plant soil or settling pond soil, with or without AMF (+AMF and -AMF respectively) and with or without Collembola (+Coll and -Coll respectively) during 1.5 month, in experiment 2. *Mean±SD, n=5. LD: Limit of detection=2.10³ gene copy number.g⁻¹ dry soil. One way or two ways ANOVA test and Tukey's HSD post-hoc test. Statistical analysis were performed without null values conditions. Statistics results are show for size AMF inoculum effect, Collembola presence effect, and interaction of both. Different letters mean significant differences (P < 0.05).*

Derelict soils	AMF	Collembola	Number of collembola per pot*	Mycorrhizal colonization (frequency of colonized roots - %)	Arbuscular abundance (in root system - %)	Bacteria density (log 16S DNAr gene copy number 10 ⁸ .g ⁻¹ dry soil)	Fungi density (log 18S DNAr gene copy number 10 ⁸ .g ⁻¹ dry soil)
Coking plant	-AMF	-Coll	0±0	0±0	0±0	9.0±1.1 a	<LD
		+Coll	23±15 a	0±0	0±0	10.0±1.4 a	<LD
	+AMF	-Coll	0±0	3±4 b	0±0 a	9.9±1.9 a	<LD
		+Coll	44±43 a	1±1 b	0.1±0.2 a	10.9±1.7 a	<LD
Settling Pond	-AMF	-Coll	0±0	0±0	0±0	5.9±1.5 a	<LD
		+Coll	22±14 a	0±0	0±0	6.2±2.7 a	<LD
	+AMF	-Coll	0±0	5±3 b	0.1±0.1 a	6.8±1.1 a	<LD
		+Coll	29±18 a	19±10 a	0.5±1.1 a	7.5±2.7 a	<LD

*ANOVA performed on dataset without “-Coll” condition. **ANOVA performed on dataset without “-AMF” condition.

V. DISCUSSION

V.1. Interactions between AMF-Collembola-ryegrass depend on 'rootable' soil volume.

Our results showed that plant biomass was strongly affected by pot size. It has been underlined previously that in almost all pot experiments, plant biomass increased when larger pots were used (Poorter *et al.*, 2012). According to these authors, a 43% increase in plant biomass was observed for every doubling of soil volume. For instance, Audet and Charest (2010) showed the shoot biomass of *Helianthus annuus* was twice higher when pot size was 3 time bigger. The reduction of growth in small pots can be caused by a lower nutrient availability (N and P) and a reduction in net photosynthesis (Poorter *et al.*, 2012). We did not observe a lower concentration of P in mycorrhizal ryegrass cultivated in the smaller pots of our experiment.

AMF colonization were strongly affected by pot size in the first experiment. Audet and Charest (2010) underlined that the "rootable" volume influences the AMF symbiosis with plants by restricting the proliferation of roots and extraradical hyphae, since the primary benefit of mycorrhizal association (*e.g.* enhanced resource acquisition capacity) is reduced. In their experiment, the hyphae frequency in sunflower roots was the double in large pots (7.5 L) compared to small pots (2 L). In other studies, AMF infection rate was reduced in small pots since the entire soil volume was exploited by roots (Baath and Hayman, 1984; Koide, 1991). Baath and Hayman (1984) also found that root density was negatively correlated with mycorrhizal colonization. However, in our study, AMF colonization rate was higher in the smaller pots and there was a positive non-linear correlation between mycorrhizal colonization and root density. Thus, we hypothesize that mycorrhizal dependency and colonization might have been favoured in the small pots by the low availability of nutrients. Indeed, the coking plant soil used in our experiment had a moderate contamination and a low fertility (low Olsen P value) compared to the other studies. The studies mentioned above have used artificial soils (mix of sand and potting soil) and brought P source by Long-Ashton nutrient solution. The availability of P (and others elements) may then have been higher in their soils compared to our derelict soils.

Collembola addition increased root biomass of mycorrhizal ryegrass only in the 1L pots without affecting AMF colonization. Our results were in accordance with Endlweber and Scheu (2007), who observed an increase of *L. perenne* root length in presence of 100 Collembola *Protaphorura fimata*. They hypothesized that changes in root morphology in presence of Collembola were due to changes in nutrient availability and distribution (Bonkowski *et al.*, 2009). In our study, the increase of root biomass in 1L pot occurred when Collembola density was the highest, *i.e.* 1.5 month of contact with plants. Indeed, after 1 month of contact of Collembola with the plant, their number was lower than the number

added, suggesting mortality or loss. However, the method to catch Collembola by flooding probably did not allow to sample all individuals, and could underestimate the total number. This shows the difficulty to sample roots and collembola in a same experiment with high density of roots. The increased root biomass with Collembola addition was however not associated with higher concentrations of nutrients such as P, K in ryegrass. The N content in plant could be assessed since Collembola seemed to have important effect on N mobilization (Endlweber and Scheu, 2006; Posta and Bakonyi, 2008). The increase of Collembola density between 1 and 1.5 month of contact was observed only in 1L pots, maybe due to the higher root density compared to 3L pots. Indeed, Endlweber and Scheu, (2007) observed a significant correlation between root productivity and Collembola density. Moreover, the presence of roots affects Collembola diet (Endlweber *et al.*, 2009), which could modify their breeding. However, no correlation between Collembola and root density was observed in our study. Concerning other nutrients, the addition of Collembola decreased K and increased Fe concentrations in roots, when the time of contact was 1 month in 1L pots. In the 3L pots, only the addition of Collembola for 1.5 months increased Fe concentration in roots. Collembola are known to enhance micro-organism biomass production by excreting nutritive material (Kaneda and Kaneko, 2011). This could contribute to nutrient remobilization in rhizosphere by micro-organisms (Clarholm, 1985). However, microbial density was not affected by Collembola inoculation in our study.

Diversity, biomass and activity of microbial community could be highly affected by mycophagous micro-arthropods as showed by Bonkowski *et al.* (2009). In our experiment, microbial density and AMF colonization were not affected by the presence of Collembola, neither in the 1L or 3L pots. As underlined by Gange (2000), the density of Collembola is very important. These authors showed that in many experiments, the response of the plant at increasing Collembola densities was bell-shaped. At optimal densities, Collembola may stimulate AMF growth and development by feeding on them (Bakonyi *et al.*, 2002; Posta and Bakonyi, 2008). Thus, we can hypothesize that density of Collembola in our experiment was not high enough to influence AMF colonization. This might also explain why Collembola inoculation did not affect microbial density (Kaneda and Kaneko, 2011). However, in our experiments only microbial density was measured but we did not take into account microbial activities. Thus, enzyme activity of mineralization capacity could be assessed (Scheu *et al.* 2005). Studies were performed on the relationship between AMF and Collembola in artificial (Harris and Boerner, 1990; Boerner and Harris, 1991; Larsen and Jakobsen, 1996; Innocenti *et al.*, 2009), mix (Warnock *et al.*, 1982), natural fertilized (Ngosong *et al.*, 2014), forest (Seres *et al.*, 2006, 2007, 2009), grassland (Jonas *et al.*, 2007; Sabais *et al.*, 2012), meadow (Siddiky *et al.*, 2012) soils or without soil (Caravaca and Ruess, 2014), but no study was reported on contaminated or derelict soils. Thus the relationships between these organisms may be influenced by the special characteristics of derelict soils. Finally, most of the studies used sterilized soils to eliminate fauna and AMF, without re-inoculation of indigenous microbial community. In the case of the experiment 2 where we used this method, the structure of microbial community may have an effect

on Collembola behavior. In this sense, it has been shown that Collembola prefer to graze on saprophytic fungi compared to AMF (Klironomos and Ursic, 1998).

V.2. The inoculation of Collembola increased AMF colonisation in the settling pond soil.

The inoculation of the Collembola in the settling pond soil significantly increased AMF colonization, but had no effect on plant biomass. No correlation between Collembola density and AMF colonization was observed in our study. Bakonyi *et al.* (2002) showed that Collembola grazing could induce an increase of AMF colonization. For instance the Collembola *S. caeca* was already used for plant-AMF-Collembola interaction experiments (*e.g.* Posta and Bakonyi, 2008; Seres *et al.*, 2009, 2007). *S. caeca* was shown to consume spores of *F. mosseae* in *in vitro* experiments but not *Folsomia candida*, another species of Collembola often used in laboratory studies (Posta and Bakonyi, 2008). In our study, only the concentration of Mg in roots and in the coking plant soil was significantly increased in the presence of the Collembola. In another soil, *S. caeca* inoculation increased the nitrogen availability to the plant (Posta and Bakonyi, 2008), but no information about Mg was found in literature

Many studies reported no effect of the presence of Collembola on plant biomass (*e.g.* Cole *et al.*, 2004; Endlweber and Scheu, 2006; Seres *et al.*, 2007). Among 11 studies reviewed, 6 of them showed no effect of Collembola presence on plant growth (Gange, 2000). However, other authors reported an increase (Kreuzer *et al.*, 2004; Lussenhop and Bassirad, 2005; Seres *et al.*, 2007) or a decrease (Sabais *et al.*, 2012) of plant biomass in the presence of Collembola. These differences could be caused by Collembola density (2×10^3 to 150×10^3 ind.m⁻² in Gange (2000)), plant taxa (*Glycine sp.*, *Trifolium sp.*, *Plantago sp.*, *Geranium sp.*, *Lolium sp.*, *etc.*) and soil volume (0.4 to 1.5 L) differences. Although many studies showed the efficacy of AMF to promote plant growth (Miransari, 2010; Meier *et al.*, 2012), notably in polluted soils (Hildebrandt *et al.*, 2007; Janoušková *et al.*, 2005), other studies showed no effect of AMF symbiosis on plant growth in organic or metallic polluted soils (Joner and Leyval, 2001; Tonin *et al.*, 2001; Seres *et al.*, 2006); soil type, plant and fungi species or ecotypes also may contribute to these different results.

Ryegrass biomass was highly different between the two studied soils. Although the settling pond soil has higher major element concentrations (exchangeable and total) and slightly lower pollutant concentrations than the coking plant soil, the highest shoot and root biomass were obtained in the coking plant soil. This result could be due to the higher C:N ratio, and the lower N content in the settling pond soil than in the coking plant soil. Thus, in the settling pond soil, nitrogen may be limited for plant and microorganisms (Huot *et al.*, 2013; Vincent *et al.*, 2018). Indeed, we observed a lower bacterial density in the settling pond compared to the coking plant soil.

V.3. Comparison between both experiments

According to review of McNamara *et al.* (2003), soil irradiation has been shown to mainly increase the availability of elements like P, K and Mn. Others studies showed that Mg and Ca (Salonius *et al.*, 1967) and also Mn, Cu, Zn, Fe available concentrations in soils (Mahmood *et al.*, 2014) were increased by irradiation treatment. Several studies showed a higher plant biomass (shoot and root) in irradiated soils compared to unsterile soils due to this increased availability of nutrients (*e.g.* Bowen and Rovira, 1961; Mahmood *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2015; El-Mohdy, 2017). In our second experiment, the coking soil was irradiated, which could explain the higher biomass of ryegrass than in the first one, but the concentrations of P and K in shoots and roots was lower than in the first one. So there is no clear indication of a higher availability of elements in the experiment with irradiated and reinoculated soil.

AMF colonization was very low in the second experiment (sterilization and re-inoculation of indigenous microbial community except AMF), in both soils, although the inoculum was identical in both experiments and the same coking plant soil was used in both of them. *F. mosseae* BEG 69 was isolated from a heavy metal-contaminated soil and is tolerant to metals (Weissenhorn *et al.*, 1993). It has been successfully used to inoculate plants in PAH-contaminated soils (Binet *et al.*, 2000; Joner and Leyval, 2001; Corgié *et al.*, 2006). Therefore, this AMF isolate should not be affected by the derelict soil properties. As the soil was non-sterile in the first experiment, we cannot exclude that indigenous AMF fungi contributed to the high colonization level. Moreover, in the sterile and re-inoculated soil (second experiment), no fungi were detected using DNA extraction and qPCR quantification of 18S rDNA genes. Thus, an important source of nutrients for Collembola might be lacking (Klironomos and Ursic, 1998) which can explain why Collembola density did not increase in the second experiment.

VI. CONCLUSION

Little is known on the interactions between organisms, such as AMF and Collembola *in situ*, especially in derelict soils. We underlined that soil volume, the time span and the soil type affected the interactions between the AMF, the Collembola and ryegrass. Indeed, the effect of Collembola on plant nutrition and growth depended on volume soil. In small pots, the presence of Collembola increased the root biomass of ryegrass. However, this effect was only observed when the Collembola was in the pots for 1.5 month. For the AMF, the time span of the interactions was not taken into account and should be considered. The soil properties also affected these interactions since an increase of AMF colonization was observed in presence of Collembola in the settling pond soil only. In our study, simultaneous Collembola and AMF inoculation neither increased the plant growth nor the uptake of nutrients in shoot and root. No effect of these organisms and of their interaction was observed either on the uptake of metallic trace elements that were present in these derelict soils. No specific effect of the AMF inoculation on the uptake of

phosphorus, as expected from these symbiotic fungi, was observed. However, our results suggested a mortality or loss of Collembola and showed a low colonization by AMF in both sterilized derelict soils. The presence of other fungi than AMF in the soil as a source for Collembola feeding should also be considered. This result prompts further investigations for a better understanding of biotic interactions in derelicts soils, before to consider a potential use of organisms for assisted revegetation.

Discussion générale

Dans ces travaux de thèse, nous avons mis en évidence que les sols délaissés sont caractérisés par une importante biodiversité fonctionnelle, dépendante du compartiment biotique considéré. Les propriétés physico-chimiques particulières de ces sols semblent sélectionner certains taxa ayant des traits et préférences écologiques spécifiques, que l'on retrouve cependant dans d'autres types de sols (forêts, prairies, agricoles). Dans un des sols délaissés étudiés, nous constatons que les différents groupes biotiques colonisent rapidement le milieu (1 à 16 mois après sa construction) sans être influencés par l'évolution rapide des paramètres physico-chimiques. Enfin, les interactions biotiques entre un collembole, un champignon mycorhizien et une plante, sont dépendantes de plusieurs facteurs abiotiques et biotiques, ce qui modifie certaines fonctions comme la croissance végétale et la dynamique des métaux. Toutefois, de nombreux verrous subsistent encore pour mieux comprendre les fonctions issues des interactions biotiques.

I- Les sols délaissés industriels sont-ils particuliers ?

Lorsqu'on laisse à l'abandon des sols ayant été fortement affectés par des activités industrielles ou même créés par le génie pédologique, la question de leur fonctionnement est peu abordée. Dans ce travail de thèse, nous nous sommes donc demandés si ces sols industriels délaissés étaient devenus des sols particuliers ou si, finalement, ils sont comparables à d'autres sols anthropisés (sols urbains, sols miniers, agricoles *etc.*) ou à des sols plus naturels (prairies, forêts, *etc.*) au niveau physico-chimique, biologique et fonctionnel.

I.1. Les sols délaissés : des sols diversifiés aux qualités contrastées

Les sols fortement anthropisés délaissés étudiés sont diversifiés, tant dans leurs origines que leurs qualités.

Ce travail de thèse a pris en compte des sols fortement anthropisés délaissés d'**origines très différentes**. En effet, des sols fortement anthropisés non construits (friches industrielles de cokeries ou bassins à boues sidérurgiques) et des Technosols construits (ayant des teneurs en matières organiques et en contaminants contrastées) ont été étudiés. Ces sols sont le reflet à la fois du lourd passé industriel de certaines régions et de la nécessité grandissante de revaloriser des matériaux considérés comme délaissés pour construire des sols. *Bien que ces travaux de thèse illustrent la diversité de ce type de sol, d'autres sols fortement anthropisés délaissés auraient pu être étudiés comme les sols de terrils miniers (Hendrychová, 2008; Banning et al., 2012; Vanhee et al., 2017).*

Nous avons étudié la qualité de ces sols, c'est-à-dire leur capacité à remplir des fonctions. Nous avons ainsi montré que **la qualité de ces sols délaissés était très contrastée**. Le sol construit présentant du compost (sol A) et le sol construit contaminés par des ETM (sol F) ont une qualité physico-chimique et

biologique très différente. Les sols A et F semblent être les sols étudiés les plus extrêmes et bornent ainsi notre étude. Les autres sols (sols d'ISDI³⁹, d'anciennes cokeries et de bassin à boues sidérurgiques) présentaient également des différences de qualité, se situant à un niveau intermédiaire entre les sols A et F. Ces différences de qualité permettent de considérer que le sol A serait le plus approprié pour une potentielle production de biomasse végétale et que le F le serait le moins. Par contre, si l'on s'attache à un service écosystémique comme le support de biodiversité, le sol F présente une biodiversité significative en collemboles et en végétaux, tandis que le sol A présente une biodiversité plus importante en macrofaune. La qualité des sols délaissés dépend donc de ce que l'on veut en faire, de l'usage futur qu'on compte leur attribuer.

Ces travaux de thèse peuvent servir de référence en ce qui concerne l'étude des sols délaissés industriels, en termes de caractérisation de leur physico-chimie, leur biologie et leur fonctionnement. Toutefois, l'échantillonnage d'un plus grand nombre de sols, dans d'autres régions et pays, permettrait d'être plus exhaustif sur la caractérisation de ces sols. Comme nous l'avons souligné dans le chapitre portant sur l'évolution temporelle du sol F, la dynamique temporelle semble très importante dans ces sols. Ainsi, des prélèvements à des périodes différentes de l'année et durant plusieurs années permettraient également de déterminer la variabilité et l'évolution temporelle de la qualité de ces sols.

I.2. La biodiversité des sols délaissés est importante et comparable à d'autres sols

Dans les sols délaissés, nous avons tout d'abord observé une forte biodiversité qui pouvait être comparable à celle d'autres types de sols.

Nous avons mis en évidence **une biodiversité taxonomique et fonctionnelle importante** dans les sols délaissés étudiés. Au niveau taxonomique, d'importantes densités et/ou richesses en collemboles, en macrofaune, en herbacées et en bactéries ont été constatées. Toutefois, pour les champignons, une plus faible diversité a été mesurée lors du séquençage de l'ADN des communautés fongiques, par rapport à d'autres sols (sols de prairies, de forêts, agricoles et urbains). Dans notre étude, aucun sol n'est particulièrement riche en biodiversité car cela dépend du compartiment biotique étudié. Par exemple, la richesse en collemboles est plus faible pour le sol A par rapport aux autres, mais ce sol présente une richesse en macrofaune plus élevée par rapport aux sols C, D, E et F.

Nous avons constaté que **les sols délaissés présentent des taxons ayant des traits et préférences écologiques souvent retrouvés dans d'autres écosystèmes.**

Au niveau des communautés fongiques, les sols étudiés sont dominés par des ascomycètes, majoritairement retrouvés dans des sols non forestiers. Par contre, le sol F, planté avec des peupliers et

³⁹ ISDI : Installation de stockage de déchets inertes

contaminé en ETM, présente une densité importante en basidiomycètes, retrouvés majoritairement dans les sols forestiers et souvent tolérants aux ETM (Thomson *et al.*, 2015; Kapahi et Sachdeva, 2017). Au niveau phylum, les communautés sont comparables à de nombreux sols du type prairie et agricole. Par contre, à un niveau taxonomique plus précis, nous observons que la structure des communautés fongiques est particulière, caractérisée par des familles fongiques peu représentées dans d'autres types de sols. Si l'on s'intéresse aux communautés fongiques d'un point de vue fonctionnel, les sols délaissés sont similaires à des sols de prairies, agricoles et urbains.

Les communautés de collemboles de ces sols délaissés sont dominées par des espèces ubiquistes, déjà retrouvées dans des milieux urbains (et anthropisés de façon générale) (Burrow, 2015; Joimel, 2015; Vanhee *et al.*, 2017). Au niveau fonctionnel, de nombreuses différences apparaissent entre les sols avec le sol F présentant des espèces de collemboles caractéristiques des milieux instables et pauvres en végétation (capacité de dispersion élevée, reproduction du type sexué, mode de vie en surface). Cette hypothèse est renforcée par l'observation d'une redondance fonctionnelle dans ce sol.

Enfin, en ce qui concerne les communautés de la macrofaune, des espèces ubiquistes ont été retrouvées dans ces sols délaissés, qui sont différentes en fonction des sols. En effet, le sol A contient de nombreux lombrics, témoignant d'une faible perturbation (contamination et usage du sol) dans ce sol, comparé aux autres sols (Nahmani et Lavelle, 2002; Pérès *et al.*, 2011; Cluzeau *et al.*, 2012). Au niveau fonctionnel, aucun trait de la macrofaune ne semble particulièrement présent ou absent dans les sols délaissés, laissant supposer un fonctionnement équilibré et comparable à d'autres sols (prairies, agricoles ou même urbains).

Pour conclure, les sols délaissés ont des communautés taxonomiques similaires aux milieux prairiaux, agricoles ou urbains, sauf pour les champignons, où les communautés semblent davantage particulières. De plus, la structure fonctionnelle des différents compartiments biotiques de ces sols semble être peu différente des sols prairiaux, agricoles et urbains. Ainsi, **en absence d'intervention humaine sur un sol ayant subi auparavant de fortes perturbations, de nombreux organismes peuvent occuper ce nouvel espace vacant.**

*Afin d'avoir une vision encore plus intégratrice de la biodiversité des sols délaissés, il serait pertinent d'étudier d'autres compartiments biotiques. Tout d'abord, des indices de passage de la mégafaune ont été constatés sur le sol F (excréments et galeries de rongeurs). Ainsi, l'étude de ce compartiment biotique peut donc être pertinente (Lavelle *et al.*, 2006; Brussaard *et al.*, 2007). Ensuite, les acariens ont été dénombrés, mais une identification à un niveau taxonomique plus précis pourrait être intéressante pour compléter les indices de diversité calculés (Bedano *et al.*, 2006; Gulvik, 2007; Luptá et Miklisová, 2012). De plus, il serait intéressant d'étudier les nématodes, dont les groupes fonctionnels sont bien renseignés dans la littérature (Bongers et Bongers, 1998; Neher, 2001; Yeates, 2003). Les microalgues peuvent être des organismes*

d'intérêt dans l'évaluation de la qualité des sols (Pipe et Shubert, 1984; West, 1990; Frouz et al., 2001; Neher, 2001; Bérard et al., 2005). Dans ce travail de thèse, ce compartiment biotique a été prélevé sur les 6 sols mais la présence de nombreuses mousses limitait la colonisation des micro-algues. De ce fait, il serait intéressant de considérer les mousses lors de futures études de la biodiversité (Szczepaniak et Biziuk, 2003; Perdomo et al., 2012; Davies et al., 2017; Xiao et Veste, 2017). Pour finir, l'étude des archées et des protozoaires pourrait également être intéressante, car ils interviennent, tous deux, dans de nombreuses fonctions du sol, notamment dans la rhizosphère (Bonkowski et Brandt, 2002; Chen et al., 2007; Moissl-Eichinger et al., 2017). L'étude de l'ensemble de ces groupes biotiques permettrait de définir l'état de la biodiversité globale de ces sols, de l'échelle micrométrique à l'échelle décimétrique.

I.3. Un sol délaissé est rapidement colonisé par les organismes vivants

Dans un des sols délaissés étudiés, nous avons caractérisé la dynamique temporelle des paramètres biotiques des différents compartiments biotiques et des paramètres physico-chimiques.

Nous avons montré que les différents **organismes étudiés** colonisent rapidement un sol construit (16 mois après la construction du sol F). Les collemboles étaient présents dès 1 mois après la construction du sol, contrairement à la macrofaune et aux plantes herbacées, qui étaient présentes à partir de 16 mois après la construction du sol. Cette colonisation rapide montre également le potentiel de ces sols à héberger une biodiversité fonctionnelle. *Il serait pertinent d'examiner la structure des communautés de collemboles, de la macrofaune et des herbacées par l'approche des traits et préférences écologiques au cours du temps (le séquençage des communautés microbiennes n'a pas été réalisé dans cette étude temporelle). En effet, cela permettrait d'étudier la dynamique temporelle des structures fonctionnelles biologiques présentes sur ce sol construit pour estimer notamment l'évolution du fonctionnement de l'écosystème.*

Nous avons constaté que le type de matériaux utilisé pour construire les 50 premiers centimètres du Technosol (formant différentes modalités) est important pour l'évolution des **paramètres physico-chimiques** des sols, notamment la teneur en MO, le rapport C/N, les concentrations en ETM et les cations majeurs échangeables. Malgré les différences au niveau physico-chimique, cet effet modalité n'est plus visible lorsque l'on compare ce Technosol aux autres sols délaissés. En effet, la variabilité entre les 6 sols est plus importante que la variabilité entre les modalités du sol F. Ceci montre l'importance de comparer plusieurs sols entre eux, car les conclusions peuvent être différentes selon le panel de sols étudiés. De ce fait, bien que la modalité du Technosol avec des boues et du biochar (TB3M) présente des caractéristiques physico-chimiques différentes des autres modalités, la différence ne semble pas si importante par rapport à d'autres sols délaissés.

Ainsi, malgré de fortes différences et une évolution rapide des paramètres physico-chimiques entre les modalités du Technosol F, **les paramètres biotiques sont peu affectés par les modalités de construction du Technosol**. Seule l'activité microbienne globale est diminuée en présence de boues industrielles et également en présence de biochar.

I.4. Les facteurs abiotiques co-varient avec les paramètres biotiques et fonctionnels, mais pas seulement.

Nous avons mis en évidence que **de nombreux paramètres abiotiques sont en relation avec les paramètres biotiques et fonctionnels**. De façon générale, la teneur en MO, le rapport C/N, la CRE, la CEC, les teneurs en P, en K, en Ca et en Mg échangeables ainsi que les concentrations en ETM disponibles sont les paramètres physico-chimiques qui co-varient avec les paramètres biotiques et fonctionnels.

Dans les études *in situ*, comme dans les expériences en laboratoire, nous mettons en évidence un effet important des teneurs en **azote**. En effet, lors des mesures *in situ*, une relation négative significative est observée entre la densité microbienne (bactérienne et fongique) et les teneurs en azote. Dans les expériences en laboratoire, la teneur en azote semble être le facteur principal modifiant fortement la biomasse du raygrass et également les interactions biotiques. Cet élément semble donc limitant dans les sols délaissés. *Ainsi, la mesure de fonctions et de traits microbiens impliqués dans le cycle de l'azote serait pertinente pour mieux comprendre la dynamique de l'azote dans ces sols. Par exemple, les gènes « amoA » impliqués dans la nitrification et les gènes « nirK », « nirS » et « nosZ » impliqués dans la dénitrification, seraient des traits intéressants à étudier (Geets et al., 2007; Graham et al., 2014).*

Toutefois, nous avons suspecté que **les paramètres abiotiques des sols ne semblent pas être les seuls facteurs influençant la biodiversité des sols délaissés**. Tout d'abord, l'environnement alentour semble également influencer la colonisation de la faune (Small et al., 2006; Dunger et Voigtländer, 2009; Hodecek et al., 2016; Vanhee et al., 2017). Par exemple, la présence de forêts à proximité des sols délaissés C, D et E semble favoriser la présence d'espèces adaptées aux milieux fermés. Ensuite, l'absence d'un couvert végétal semble déterminer la sélection de certaines espèces de collemboles ayant des traits leur permettant de résister à la lumière, la sécheresse, une capacité de dispersion plus importante et un mode de reproduction favorisant le brassage génétique (Salmon et al., 2014). Ces traits sont également retrouvés chez les espèces des milieux instables. De même, les conditions physico-chimiques de la rhizosphère et également la composition des communautés des herbacées pourraient influencer la structure des communautés fongiques (Shann et al., 1994; Costa et al., 2006; Broeckling et al., 2008; Berg et Smalla, 2009). *Il semble donc important de caractériser le paysage aux alentours lors de futures campagnes de prélèvements de sols délaissés car les milieux environnant sont généralement la source principale d'espèces colonisatrices (Wali, 1999; McIntyre, 2000; Verhagen et al., 2008; Dunger et Voigtländer, 2009). Ainsi, des études relevant de l'écologie du paysage pourraient être complémentaires*

aux études des sols (Burel et Baudry, 1999). De plus, une prise en compte du couvert végétal (par une mesure du taux de recouvrement par exemple) permettrait d'estimer davantage l'effet de ce couvert sur la sélection des communautés faunistiques (Fountain et Hopkin, 2004; D'Annibale et al., 2017). D'autre part, des analyses physico-chimiques des sols rhizosphériques seraient pertinentes pour déterminer le lien entre ces paramètres et les communautés fongiques racinaires (Costa et al., 2006; Broeckling et al., 2008). Ayant caractérisé les communautés d'herbacées, il serait également pertinent de confronter la composition taxonomique et fonctionnelle de cette communauté à celle des champignons et de la faune par l'utilisation de bases de données comme « TRY⁴⁰ » (www.try-db.org).

II- L'étude de plusieurs groupes biotiques présente des avantages, mais de nombreux verrous subsistent.

Le principal défi de cette thèse porte sur l'étude de **plusieurs compartiments biotiques en simultanément, d'un point de vue taxonomique et fonctionnel**. Bien que d'autres études aient déjà pris en compte plusieurs compartiments biotiques en même temps, rare sont celles qui couplent l'approche taxonomique et fonctionnelle de la biodiversité de plusieurs compartiments, en particulier dans les études des sols délaissés.

II.1. Etudier plusieurs compartiments biotiques permet de mieux comprendre les écosystèmes.

Afin de caractériser les sols délaissés de la façon la plus complète possible, sans simplifier les paramètres mesurés, une **approche des communautés** taxonomiques et fonctionnelles des différents compartiments a été réalisée. Nous avons mis en évidence que l'étude de compartiments biotiques, pris indépendamment les uns des autres, donne des conclusions différentes sur la qualité des sols. En effet, un sol peut être considéré comme ayant une qualité biologique élevée selon un compartiment biotique mais avoir une faible qualité biologique selon un autre compartiment. Nos travaux ont donc souligné l'importance de prendre en compte la totalité des compartiments biotiques pour définir correctement la qualité d'un sol délaissé.

Prendre en compte la complexité de l'écosystème peut être plus réaliste mais plus difficile à interpréter et à utiliser comme critère d'aide à la décision, par exemple pour réhabiliter ces sites délaissés (Havlicek, 2012). Certains indicateurs habituellement utilisés en écologie ont été employés dans ce travail de thèse, notamment la densité, la richesse et l'équitabilité taxonomique et fonctionnelle. D'autres indicateurs, sous forme d'indices, permettent de définir plus simplement la qualité d'un sol (Bastida et al., 2008; Paz-Ferreiro

⁴⁰ TRY n'est pas un acronyme.

et Fu, 2016). Par exemple, le rapport entre la densité fongique et bactérienne (Bardgett et McAlister, 1999; de Vries et al., 2006; Stauffer et al., 2014; Malik et al., 2016) ou le rapport entre la densité en acariens et en collemboles, sont utilisés pour définir la qualité d'un sol (Santoruf et al., 2012) ou comme indicateur de la stabilité environnementale (Bachelier, 1978). D'autres indices utilisent les catégories écomorphologiques des invertébrés pour définir un indice global. L'indice « biological soil quality-collembola » (BSQ-c) ou l'indice « biological soil quality-arthropods » (BSQ-ar) pour les collemboles et la macrofaune respectivement, sont fréquemment rencontrés dans la littérature (Parisi, 2001; Gardi et al., 2002). Pour la macrofaune, l'indice biologique de la qualité des sols (IBQS, Index of biological soil quality en anglais) proposé par Ruiz et al. (2011) pourrait être calculé afin de compléter notre étude.

II.2. Les différentes études des fonctions biotiques : des résultats complémentaires mais difficiles à comparer

Dans cette partie de la discussion, nous comparons tout d'abord l'étude des fonctions biotiques selon l'approche des traits et selon la mesure directe de la fonction. Ensuite, nous soulignons l'intérêt d'étudier les traits et préférences écologiques. Pour finir, nous mettons en évidence la difficulté de comparer l'étude des fonctions assurées par différents groupes biotiques.

Dans ce travail de thèse, **deux approches ont été entreprises pour étudier les fonctions biologiques** : mesurer les fonctions (enzymatiques/de minéralisation) ou utiliser les traits et préférences écologiques. Dans les deux cas, il s'agit de mesures potentielles. En effet, les mesures des fonctions enzymatiques et de minéralisation sont réalisées dans des conditions très éloignées du terrain (température, humidité et granulométrie du sol, par exemple), et les traits et préférences écologiques se basent sur des données de la littérature. Par ailleurs, pourquoi utiliser l'approche par les traits au lieu de mesurer directement les fonctions ? Dans ce travail de thèse, nous pouvons comparer les deux approches grâce à l'étude du compartiment fongique. D'après l'étude des fonctions ou des traits fongiques, le sol A apparaît comme celui ayant (i) l'activité de minéralisation la plus intense, avec des activités enzymatiques et de minéralisation élevées selon les mesures d'activité et (ii) une proportion en saprophytes du sol également élevée selon l'approche par les traits. Ainsi, les deux approches donnent des résultats qui vont dans le même sens.

L'approche par les traits présente des avantages. L'approche par les traits permet ainsi de donner davantage d'informations sur la structure des communautés par rapport aux mesures des fonctions. En effet, les traits permettent d'identifier l'ensemble des attributs possibles de la communauté pour un trait donné. De plus, l'utilisation des traits permet d'estimer des fonctions biologiques difficilement mesurables et/ou chronophages. Dans ce travail de thèse, l'utilisation des traits et préférences écologiques a permis de mieux estimer la diversité fonctionnelle de plusieurs groupes biotiques. La mesure des traits peut être d'un grand intérêt dans l'évaluation des risques, s'apparentant à un bio-

indicateur. Par exemple, la mesure de l'abondance relative de bactéries ayant le gène de la HAP-dioxygénase (GN et GP PAH-RHD α) renseigne sur la présence d'une contamination en HAP d'un sol. A l'instar du gène GN et GP PAH-RHD α , un autre trait génétique a été mesuré dans ce travail de thèse, permettant d'évaluer la résistance au stress métallique. Il s'agit de l'opéron « czc » qui code une protéine impliquée dans l'efflux du Cd, du Zn et du Co (Diels *et al.*, 1995; Roosa *et al.*, 2014). Toutefois, ce trait est beaucoup moins sensible que les gènes GN et GP PAH-RHD α , causant de fortes variabilités lors des mesures, et n'a pas pu être relié aux teneurs en ETM des sols. C'est pourquoi ce gène n'a pas été pris en compte dans les résultats de cette thèse.

Bien que pertinente pour avoir une vision plus large de l'écosystème, la **comparaison des sols sur la base des structures fonctionnelles provenant de groupes biotiques différents n'est pas aisée**. Un premier verrou pour comparer les structures fonctionnelles des différents groupes biotiques porte sur la nature des traits eux même : il n'y a pas de trait commun entre les différents groupes biotiques. Le seul trait commun envisageable est le type d'habitat (milieu forestier, prairial, humide, agricole ou artificiel) commun aux collemboles et à la macrofaune mais pas aux champignons. Bien que l'outil FUNGuild ne renseigne pas sur ce trait, il serait possible de l'estimer, en fonction du mode trophique (par exemple, les ectomycorhizes se trouvent majoritairement en milieu forestier) et d'informations complémentaires venant de la littérature. *Une analyse globale multivariée prenant en compte la totalité des attributs des traits des différents groupes biotiques pourrait être envisageable, en utilisant par exemple des réseaux de co-occurrences (Creamer et al., 2016; Karimi et al., 2017). Toutefois un nombre plus important d'échantillons est nécessaire ainsi qu'une sélection des traits à étudier car de trop nombreuses co-occurrences existent entre les traits d'un même groupe biotique (Malcicka et al., 2017; Vanhee et al., 2017).*

II.3. Influence des interactions biotiques sur la biodiversité et les fonctions : de nombreuses hypothèses à vérifier.

Dans ce travail de thèse, nous avons abordé la notion d'interactions biotiques dans les études *in situ* et principalement dans les expériences en laboratoire.

Dans les **études *in situ*** de ce travail de thèse, nous avons estimé les interactions biotiques par la mesure des corrélations entre les abondances et richesses taxonomiques des différents compartiments biotiques. Ainsi, nous avons mis en évidence une relation négative entre la biomasse végétale et sa richesse, une relation positive entre la richesse végétale et la richesse en collemboles et une relation positive entre la biomasse végétale et la densité de la macrofaune. Ces résultats soulignent l'importance du couvert végétal, comme nous l'avons mentionné précédemment (partie I.4. de cette discussion générale). Toutefois, ces interactions restent des hypothèses car il ne s'agit que de corrélations. Seuls des tests en laboratoire ou sur le terrain en conditions contrôlées peuvent confirmer ou infirmer ces

interactions biotiques et observer d'éventuelles conséquences fonctionnelles. *Par exemple, il serait intéressant de mener une expérience semi-contrôlée in situ, testant l'effet du couvert végétal sur la densité de la faune et des micro-organismes dans ces sols délaissés.*

C'est dans cette optique que les relations entre une espèce de collembole, un champignon mycorhizien à arbuscules et une herbacée ont été testées **en laboratoire**, ainsi que les conséquences fonctionnelles de ces interactions. Les résultats obtenus montrent que la nature du sol délaissé, le volume de sol, la durée de l'interaction et la présence de champignons autochtones affectent l'activité des organismes, les interactions biotiques et leurs conséquences fonctionnelles. La présence simultanée de la faune et du champignon mycorhizien, quels que soient les conditions expérimentales, n'a pas montré d'effet sur la croissance végétale ou sur la dynamique des métaux dans la plante. Ces effets n'ont peut-être pas été visibles à cause des espèces utilisées, du nombre de collembole, du temps de l'interaction *etc.* (Gange, 2000). *D'autres expériences doivent être menées pour mieux comprendre l'effet des interactions biotiques sur les conséquences fonctionnelles. Par exemple, il serait intéressant de recommencer les expériences sur le long terme, avec d'autres espèces et des densités en collemboles plus importantes. Comme ce travail de thèse se base sur l'hypothèse qu'une importante diversité fonctionnelle stabilise un écosystème en multipliant les fonctions du sol, nous pouvons également supposer qu'une importante diversité fonctionnelle multiplie les interactions biotiques, et donc la biodiversité et les fonctions du sol (Symstad et al., 2000). C'est pourquoi, il serait pertinent de tester l'effet de la richesse fonctionnelle des collemboles (augmentation du nombre de groupes écomorphologiques différents par exemple) sur la colonisation mycorhizienne, la croissance végétale et la dynamique des métaux.*

Conclusion générale

Cette thèse a relevé le défi d'appréhender la notion de sols fortement anthropisés délaissés en caractérisant ces sols d'un point de vue abiotique, biotique et fonctionnel, de confronter plusieurs compartiments biologiques différents, d'utiliser à la fois des approches taxonomiques et fonctionnelles, y compris des approches basées sur les traits et d'étudier les interactions entre organismes. Nous avons donc défini ces différents concepts, notamment la notion de biodiversité, de fonctions et de traits/préférences écologiques, qui diffèrent en fonction des groupes étudiés, afin d'avoir un langage commun. Nous avons adapté les protocoles d'échantillonnage, de sorte à prélever les différents organismes en un même point de prélèvement. Pour finir, nous avons comparé de nombreux jeux de données concernant les paramètres physico-chimiques, biologiques (densité et diversité des bactéries, champignons, collemboles, macrofaune, herbacées) et fonctionnels (mesures de fonctions ou de traits/préférences écologiques) de l'écosystème. Ces travaux permettront ainsi d'appréhender plus facilement la biodiversité de manière plus intégrée et les interactions entre ses composantes dans d'autres études.

En caractérisant différents sols délaissés, par différentes approches, nous avons mis en évidence que ces sols délaissés étudiés étaient caractérisés par une biodiversité significative, comparable à celle d'autres types de sols, comme les sols forestiers, de prairies ou agricoles. De plus, la composition taxonomique et fonctionnelle (basée sur les traits) des champignons, des collemboles et de la macrofaune est similaire à d'autres types de sols. Toutefois, des différences de densité, de richesse et de structure taxonomique et fonctionnelle entre les sols délaissés existent et sont dépendantes du groupe biotique considéré. Ce résultat souligne l'importance d'étudier en simultané les différentes composantes de la biodiversité afin d'évaluer la qualité des sols délaissés. Toutefois, en dehors du suivi d'un des sols sur une durée de deux ans, la dynamique dans le temps de ces sols délaissés n'a pas été prise en compte, et mériterait de l'être.

Les interactions biotiques jouent sans aucun doute un rôle majeur dans l'installation de la biodiversité et dans le fonctionnement biologique, comme la croissance végétale et la dynamique des éléments. Bien que ces interactions soient complexes à étudier, les recherches méritent d'être poursuivies et de nouvelles expériences menées pour mieux comprendre les interactions biotiques dans les sols.

Dans l'optique de réhabiliter les sites de ces sols délaissés, nous avons montré que ces sols pouvaient supporter le service écosystémique d'habitat pour une biodiversité. De plus, l'ensemble des paramètres étudiés permet de considérer que le sol construit et amendé en compost (sol A) pourrait être utilisé pour une production de biomasse végétale à usage non alimentaire. Le sol construit et contaminé par des ETM (sol F), qui présentait des caractéristiques peu favorables à une production de biomasse végétale (notamment lorsqu'il était amendé avec des boues

industriels et du biochar), a aussi permis la culture de peupliers. Ceci montre ainsi un potentiel de valorisation de ces sols délaissés.

Références bibliographiques

- Abawi, G.S., Widmer, T.L., 2000. Impact of soil health management practices on soilborne pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops. *Appl. Soil Ecol.* 15, 37–47.
- Abed, R.M.M., Al-Kindi, S., Al-Kharusi, S., 2015. Diversity of bacterial communities along a petroleum contamination gradient in desert soils. *Microb. Ecol.* 69, 95–105.
- ADEME, 2014. Biodiversité & reconversion des friches urbaines polluées.
- ADEME, 2009. Taux d'utilisation et coûts des différentes techniques et filière de traitement des sols et eaux souterraines pollués en France.
- ADEME, 2008. Traitabilité des sols pollués - Guide méthodologique pour la sélection des techniques.
- Adhikari, K., Hartemink, A.E., 2016. Linking soils to ecosystem services — A global review. *Geoderma* 262, 101–111.
- Agapow, P., Bininda-Emonds, O.R.P., Crandall, K.A., Gittleman, J.L., Mace, G.M., Marshall, J.C., Purvis, A., 2004. The Impact of Species Concept on Biodiversity Studies. *Q. Rev. Biol.* 79, 161–179.
- Agegehu, G., Nelson, P.N., Bird, M.I., 2016. Soil & Tillage Research Crop yield, plant nutrient uptake and soil physicochemical properties under organic soil amendments and nitrogen fertilization on Nitisols. *Soil Tillage Res.* 160, 1–13.
- Agegehu, G., Srivastava, A.K., Bird, M.I., 2017. The role of biochar and biochar-compost in improving soil quality and crop performance: A review. *Appl. Soil Ecol.* 119, 156–170.
- Aghababaei, F., Raiesi, F., 2015. Mycorrhizal fungi and earthworms reduce antioxidant enzyme activities in maize and sunflower plants grown in Cd-polluted soils. *Soil Biol. Biochem.* 86, 87–97.
- Aghababaei, F., Raiesi, F., Hosseinpour, A., 2014. The significant contribution of mycorrhizal fungi and earthworms to maize protection and phytoremediation in Cd-polluted soils. *Pedobiologia (Jena)*. 57, 223–233.
- Agtmaal, M. van, Straathof, A., Termorshuizen, A., Teurlincx, S., Hundscheid, M., Ruyters, S., Busschaert, P., Lievens, B., Boer, W. de, 2017. Exploring the reservoir of potential fungal plant pathogens in agricultural soil. *Appl. Soil Ecol.* 121, 152–160.
- Ahemad, M., 2014. Remediation of metalliferous soils through the heavy metal resistant plant growth promoting bacteria: Paradigms and prospects. *Arab. J. Chem.* nd.
- Ainsworth, G.C., Sussman, A.S., Sparrow, F.K., 1973. *The fungi: A taxonomic review with keys*. Academic Press.
- Aksoy, E., Louwagie, G., Gardi, C., Gregor, M., Schröder, C., Löhnertz, M., 2017. Assessing soil biodiversity potentials in Europe. *Sci. Total Environ.* 589, 236–249.
- Alexandratos, N., Bruinsma, J., 2012. *World agriculture towards 2030/2050 - The 2012 revision*, Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Alguacil, M.M., Torres, M.P., Torrecillas, E., Díaz, G., Roldán, A., 2011. Plant type differently promote the arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity in the rhizosphere after revegetation of a degraded, semiarid land. *Soil Biol. Biochem.* 43, 167–173.
- Allen, T.R., Millar, T., Berch, S.M., Berbee, M.L., 2003. Culturing and direct DNA extraction find different fungi from the same ericoid mycorrhizal roots. *New Phytol.* 160, 255–272.
- Allison, S.D., Martiny, J.B.H., 2008. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105 Suppl, 11512–9.
- Alloway, B.J., 2013. *Heavy metals in soils*, Environmental Pollution. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Ameloot, N., Graber, E.R., Verheijen, F.G.A., De Neve, S., 2013. Interactions between biochar stability and soil organisms: review and research needs. *Eur. J. Soil Sci.* 64, 379–390.
- Amir, H., Jourand, P., Cavaloc, Y., Ducouso, M., 2014. Role of mycorrhizal fungi in the alleviation of heavy metal toxicity in plants, in: *Mycorrhizal Fungi: Use in Sustainable Agriculture and Forestry*. Volume 41. *Soil Biology*, pp. 241–258.
- Amir, H., Lagrange, A., Hassaine, N., Cavaloc, Y., 2013. Arbuscular mycorrhizal fungi from New Caledonian ultramafic soils improve tolerance to nickel of endemic plant species. *Mycorrhiza* 23, 585–595.
- Anderson, E.C., Minor, E.S., 2017. Vacant lots: An underexplored resource for ecological and social benefits in cities. *Urban For. Urban Green.* 21, 146–152.
- Anderson, J.M., Ingram, J.S.I., 1993. *Tropical Soil Biology and Fertility-A handbook of methods*. *Soil Sci.* 157, 265.
- Andrade-linares, D.R., Franken, P., 2013. Fungal endophytes in plant roots: taxonomy, colonization patterns, and functions., in: Springer Berlin Heidelberg. (Ed.), *Symbiotic Endophytes*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 311–334.
- Aquino, M.T., Plassard, C., 2004. Dynamics of ectomycorrhizal mycelial growth and P transfer to the host plant in response to low and high soil P availability. *FEMS Microbiol. Ecol.* 48, 149–156.
- Arienzo, M., Adamo, P., Cozzolino, V., 2004. The potential of *Lolium perenne* for revegetation of contaminated soil from a metallurgical site. *Sci. Total Environ.* 319, 13–25.
- Arnold, A.E., Lutzoni, F., 2007. Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots? *Ecology* 88, 541–549.
- Artursson, V., Finlay, R.D., Jansson, J.K., 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environ. Microbiol.* 8, 1–10.
- Ascough, P.L., Sturrock, C.J., Bird, M.I., 2012. Investigation of growth responses in saprophytic fungi to charred biomass. *Isotopes Environ. Health Stud.* 1, 64–77.
- Asgharipour, M. R., Rafiei, M., 2011. The effects of land use on biomass and catabolic diversity of soil microbial communities. *African Journal of Agricultural Research.* 6, 4607–4612.
- Attwood, S.J., Maron, M., House, A.P.N., Zammit, C., 2008. Do arthropod assemblages display globally consistent responses to intensified agricultural land use and management? *Glob. Ecol. Biogeogr.* 17, 585–599.
- Aubin, I., Venier, L., Pearce, J., Moretti, M., 2013. Can a functional multi-taxa approach improve our assessment of forest management impact on biodiversity? *Biodivers. Conserv.* 22, 2957–2975.
- Auclerc, A., Nahmani, J., Aran, D., Baldy, V., Callot, H., Gers, C., Iorio, E., Lapied, E., Lassauce, A., Pasquet, A., Spelda, J., Rossi, J.P., Guérol, F., 2012. Changes in soil macroinvertebrate communities following liming of acidified forested catchments in the Vosges Mountains (North-eastern France). *Ecol. Eng.* 42, 260–269.
- Auclerc, A., Ponge, J.-F., Barot, S., Dubs, F., 2009. Experimental assessment of habitat preference and dispersal ability of soil springtails. *Soil Biol. Biochem.* 41, 1596–1604.
- Audet, P., Charest, C., 2010. Identification of constraining experimental-design factors in mycorrhizal pot-growth studies. *J. Bot.* 2010, 1–6.
- Audet, P., Charest, C., 2006. Effects of AM colonization on “wild tobacco” plants grown in zinc-contaminated soil. *Mycorrhiza* 16, 277–

- Austruy, A., Laplanche, C., Mombo, S., Dumat, C., Deola, F., Gers, C., 2016. Ecological changes in historically polluted soils: Metal(loid) bioaccumulation in microarthropods and their impact on community structure. *Geoderma* 271, 181–190.
- Baath, E., Hayman, D.S., 1984. Effects of soil volume and plant density on mycorrhizal infection and growth response. *Plant Soil* 77, 373–376.
- Bachelier, G., 1978. La faune des sols - son écologie et son action.
- Bachelier, G., 1971. La vie animale dans les sols.
- Bauer, D. F., 1972. Constructing confidence sets using rank statistics. *Journal of the American Statistical Association*, 67, 687–690.
- Bai, L., Cui, J., Jie, W., Cai, B., 2015. Analysis of the community compositions of rhizosphere fungi in soybeans continuous cropping fields. *Microbiol. Res.* 180, 49–56.
- Bainard, L.D., Navarro-Borrell, A., Hamel, C., Braun, K., Hanson, K., Gan, Y., 2017. Increasing the frequency of pulses in crop rotations reduces soil fungal diversity and increases the proportion of fungal pathotrophs in a semiarid agroecosystem. *Agric. Ecosyst. Environ.* 240, 206–214.
- Baize, D., Girard, M.-C., 2008. *Référentiel pédologique*. Editions Quae.
- Baize, D., Jabiol, B., 2011. *Guide pour la description des sols*. Editions Quae.
- Bakonyi, G., Posta, K., Kiss, I., Fábrián, M., Nagy, P., Nosek, J.N., 2002. Density-dependent regulation of arbuscular mycorrhiza by collembola. *Soil Biol. Biochem.* 34, 661–664.
- Baldan, E., Basaglia, M., Fontana, F., Shapleigh, J.P., Casella, S., 2015. Development, assessment and evaluation of a biopile for hydrocarbons soil remediation. *Int. Biodeterior. Biodegradation* 98, 66–72.
- Bama, M.E., Ramakrishnan, K., 2010. Studies on the occurrence and distribution of AM fungi in sugar mill effluent polluted soils in nellikuppam region of cuddalore district. *J. Phytol.* 2, 21.
- Bamminger, C., Zaiser, N., Zinsser, P., Lamers, M., Kammann, C., Marhan, S., 2014. Effects of biochar, earthworms, and litter addition on soil microbial activity and abundance in a temperate agricultural soil. *Biol. Fertil. Soils* 50, 1189–1200.
- Bannert, A., Kleineidam, K., Wissing, L., Mueller-Niggemann, C., Vogelsang, V., Welzl, G., Cao, Z., Schlöter, M., 2011. Changes in diversity and functional gene abundances of microbial communities involved in nitrogen fixation, nitrification, and denitrification in a tidal wetland versus paddy soils cultivated for different time periods. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 6109–6116.
- Banning, N. C., Grant, C. D., Jones, D. L., & Murphy, D. V., 2008. Recovery of soil organic matter, organic matter turnover and nitrogen cycling in a post-mining forest rehabilitation chronosequence. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 2021–2031.
- Banning, N.C., Gleeson, D.B., Grigg, A.H., Grant, C.D., Andersen, G.L., Brodie, E.L., Murphy, D. V., 2011. Soil microbial community successional patterns during forest ecosystem restoration. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 6158–6164.
- Banning, N.C., Lalor, B.M., Cookson, W.R., Grigg, A.H., Murphy, D. V., 2012. Analysis of soil microbial community level physiological profiles in native and post-mining rehabilitation forest: Which substrates discriminate? *Appl. Soil Ecol.* 56, 27–34.
- Baranova, B., Manko, P., Jaszay, T., 2014. Waste dumps as local biodiversity hotspots for soil macrofauna and ground beetles (Coleoptera: Carabidae) in the agricultural landscape. *Ecol. Eng.* 81, 1–13.
- Barbaro, L., Van Halder, I., 2009. Linking bird, carabid beetle and butterfly life-history traits to habitat fragmentation in mosaic landscapes. *Ecography (Cop.)* 32, 321–333.
- Bardgett, R., Van Der Putten, W.H., 2014. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature* 515, 505–511.
- Bardgett, R.D., 2002. Causes and consequences of biological diversity in soil. *Zoology (Jena)*. 105, 367–374.
- Bardgett, R.D., Chan, K.F., 1999. Experimental evidence that soil fauna enhance nutrient mineralization and plant nutrient uptake in montane grassland ecosystems. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1007–1014.
- Bardgett, R.D., McAlister, E., 1999. The measurement of soil fungal:bacterial biomass ratios as an indicator of ecosystem self-regulation in temperate meadow grasslands. *Biol. Fertil. Soils* 29, 282–290.
- Bardgett, R.D., van der Wal, R., Jónsdóttir, I.S., Quirk, H., Dutton, S., 2007. Temporal variability in plant and soil nitrogen pools in a high-Arctic ecosystem. *Soil Biol. Biochem.* 39, 2129–2137.
- Bardgett, R.D., Wardle, D.A., 2010. *Aboveground-belowground linkages: biotic interactions, ecosystem processes, and global change*. Oxford University Press.
- Bargmann, T., Arild, B., Grytnes, J.-A., 2015. Effects of prescribed burning on carabid beetle diversity in coastal anthropogenic heathlands. *Biodivers. Conserv.* 24, 2565–2581.
- Barnier, C., Ouvrard, S., Robin, C., Morel, J.L., 2014. Desorption kinetics of PAHs from aged industrial soils for availability assessment. *Sci. Total Environ.* 470–471, 639–645.
- Baronti, S., Vaccari, F. P., Miglietta, F., Calzolari, C., Lugato, E., Orlandini, S., Genesio, L., 2014. Impact of biochar application on plant water relations in *Vitis vinifera* (L.). *European Journal of Agronomy*, 53, 38–44.
- Barrios, E., 2007. Soil biota, ecosystem services and land productivity. (Special Issue: Ecosystem services and agriculture.). *Ecol. Econ.* 64, 269–285.
- Bartke, S., Schwarze, R., 2015. No perfect tools: Trade-offs of sustainability principles and user requirements in designing support tools for land-use decisions between greenfields and brownfields. *J. Environ. Manage.* 153, 11–24.
- BASOL, 2017. Base de données BASOL sur les sites et sols pollués (ou potentiellement pollués) - consulté le 08-12-2017 [WWW Document]. BASOL.
- Bastida, F., Hernández, T., García, C., 2010. Soil degradation and rehabilitation: microorganisms and functionality, in: *Microbes at Work*. Springer, pp. 253–270.
- Bastida, F., Zsolnay, A., Hernández, T., García, C., 2008. Past, present and future of soil quality indices: A biological perspective. *Geoderma* 147, 159–171.
- Bedano, C., Cantu, M.P., Edmundo, M., 2006. Influence of three different land management practices on soil mite (Arachnida : Acari) densities in relation to a natural soil 32, 293–304.
- Bedunah, D.J., Sosebee, R.E., for Range Management, S., 1995. *Wildland plants: Physiological ecology and developmental morphology*. Society for Range Management.
- Beeby, A., Richmond, L., 1989. The shell as a site of lead deposition in *Helix aspersa*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 18, 623–628.
- Beesley, L., Moreno-Jiménez, E., Gomez-Eyles, J.L., Harris, E., Robinson, B., Sizmur, T., 2011. A review of biochars' potential role in the remediation, revegetation and restoration of contaminated soils. *Environ. Pollut.* 159, 3269–3282.
- Beier, S., Bertilsson, S., 2013. Bacterial chitin degradation-mechanisms and ecophysiological strategies. *Front. Microbiol.* 4, 1–12.

- Bell, T.H., El-Din Hassan, S., Lauron-Moreau, A., Al-Otaibi, F., Hijri, M., Yergeau, E., St-Arnaud, M., 2014. Linkage between bacterial and fungal rhizosphere communities in hydrocarbon-contaminated soils is related to plant phylogeny. *ISME J.* 8, 331–343.
- Benitez, M.S., Taheri, W.I., Lehman, R.M., 2016. Selection of fungi by candidate cover crops. *Appl. Soil Ecol.* 103, 72–82.
- Bérard, A., Dorigo, U., Humbert, J.F., Martin-Laurent, F., others, 2005. Microalgae community structure analysis based on 18S rDNA amplification from DNA extracted directly from soil as a potential soil bioindicator. *Agron. Sustain. Dev.* 25, 285–291.
- Berg, G., Opelt, K., Zachow, C., Lottmann, J., Götz, M., Costa, R., Smalla, K., 2006. The rhizosphere effect on bacteria antagonistic towards the pathogenic fungus *Verticillium* differs depending on plant species and site. *FEMS Microbiol. Ecol.* 56, 250–261.
- Berg, G., Smalla, K., 2009. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiol. Ecol.* 68, 1–13.
- Bergey, D., Harrison, F., Breed, R., 1923. *Bergey's manual of determinative bacteriology*, Bergey's Manual of. Williams and Wilkins.
- Berthelot, C., Leyval, C., Foulon, J., Chalot, M., Blaudez, D., 2016. Plant growth promotion, metabolite production and metal tolerance of dark septate endophytes isolated from metal-polluted poplar phytomanagement sites. *FEMS Microbiol. Ecol.* 92, 1–14.
- Bertrand, J.-C., Caumette, P., Lebaron, P., Matheron, R., Normand, P., 2011. *Ecologie microbienne: Microbiologie des milieux naturels et anthropisés*. Presses universitaires de Pau et des Pays de l'Adour.
- Betz, O., 2002. Performance and adaptive value of tarsal morphology in rove beetles of the genus *Stenus* (Coleoptera, Staphylinidae). *J Exp Biol* 205, 1097–1113.
- Beylich, A., Oberholzer, H.-R., Schrader, S., Höper, H., Wilke, B.-M., 2010. Evaluation of soil compaction effects on soil biota and soil biological processes in soils. *Soil Tillage Res.* 109, 133–143.
- Biache, C., Mansuy-Huault, L., Faure, P., Munier-Lamy, C., Leyval, C., 2008. Effects of thermal desorption on the composition of two coking plant soils: Impact on solvent extractable organic compounds and metal bioavailability. *Environ. Pollut.* 156, 671–677.
- Binet, P., Portal, J.M., Leyval, C., 2000. Fate of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in the rhizosphere and mycorrhizosphere of ryegrass. *Plant Soil* 227, 207–213.
- Bio-Rad Laboratories, n.d. Quantity One @ 1-D Analysis Software - version 4.6.9.
- Bispo, A., Cluzeau, D., Creamer, R., Dombos, M., Graefe, U., Krogh, P., Sousa, J., Peres, G., Rutgers, M., Winding, A., Römbke, J., 2009. Indicators for Monitoring Soil Biodiversity. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 5, 717.
- Blakely, J.K., Neher, D.A., Spongberg, A.L., 2002. Soil invertebrate and microbial communities, and decomposition as indicators of polycyclic aromatic hydrocarbon contamination. *Appl. Soil Ecol.* 21, 71–88.
- Blanchart, A., Sere, G., Cherel, J., Warot, G., Stas, M., Consales, J., Schwartz, C., 2017. Contribution des sols à la production de services écosystémiques en milieu urbain. *Environnement* 11.
- Blandin, P., 2014. Chapitre 1. La diversité du vivant avant (et après) la biodiversité : repères historiques et épistémologiques, in: *La biodiversité en question, Sciences & philosophie*. Editions Matériologiques, Paris, pp. 29–68.
- Boamponsem, G.A., Obeng, A. K., Osei-Kwateng, M., Badu, A. O., 2013. Accumulation of heavy metals by *Pleurotus ostreatus* from soils of metal scrap sites. *International Journal of Current Research and Review*, 5, 1.
- Boddy, L., 2000. Interspecific combative interactions between wood-decaying basidiomycetes. *FEMS Microbiol. Ecol.* 31, 185–194.
- Boerner, R.E.J., Harris, K.K., 1991. Effects of collembola (arthropoda) and relative germination date on competition between mycorrhizal *Panicum virgatum* (Poaceae) and non-mycorrhizal *Brassica nigra* (Brassicaceae). *Plant Soil* 136, 121–129.
- Bongers, T., 1990. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia* 83, 14–19.
- Bongers, T., Bongers, M., 1998. Functional diversity of nematodes. *Appl. Soil Ecol.* 10, 239–251.
- Bonkowski, M., Brandt, F., 2002. Do soil protozoa enhance plant growth by hormonal effects? *Soil Biol. Biochem.* 34, 1709–1715.
- Bonkowski, M., Griffiths, B.S., Ritz, K., 2000. Food preferences of earthworms for soil fungi. *Pedobiologia (Jena)*. 44, 666–676.
- Bonkowski, M., Villenave, C., Griffiths, B., 2009. Rhizosphere fauna: The functional and structural diversity of intimate interactions of soil fauna with plant roots. *Plant Soil* 321, 213–233.
- Bonnier, G., de Layens, G., 1986. *Flore complète portative de la France de la Suisse et de la Belgique*. Broché.
- Bonthoux, S., Brun, M., Di Pietro, F., Greulich, S., Bouché-Pillon, S., 2014. How can wastelands promote biodiversity in cities? A review. *Landsc. Urban Plan.* 132, 79–88.
- Boonchan, S., Britz, M.L., Stanley, G.A., 2000. Degradation and mineralization of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungal bacterial cocultures. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 1007–1019.
- Borowik, A., Wyszowska, J., Oszust, K., 2017. Functional Diversity of Fungal Communities in Soil Contaminated with Diesel Oil. *Front. Microbiol.* 8, 1862.
- Boshoff, M., De Jonge, M., Dardenne, F., Blust, R., Bervoets, L., 2014. The impact of metal pollution on soil faunal and microbial activity in two grassland ecosystems. *Environ. Res.* 134, 169–180.
- Bouche, M.B., 1972. *Lombriciens de France*, *Annals zool.Ecol.Anim.* *Annals zool.Ecol.Anim.*
- Bouchez, T., Blieux, A.L., Dequiedt, S., Domaizon, I., Dufresne, A., Ferreira, S., Godon, J.J., Hellal, J., Joulain, C., Quaiser, A., Martin-Laurent, F., Mauffret, A., Monier, J.M., Peyret, P., Schmitt-Koplin, P., Sibourg, O., D'oiron, E., Bispo, A., Deportes, I., Grand, C., Cuny, P., Maron, P.A., Ranjard, L., 2016. Molecular microbiology methods for environmental diagnosis. *Environ. Chem. Lett.* 14, 423–441.
- Bourceret, A., Cébron, A., Tisserant, E., Poupin, P., Bauda, P., Beguiristain, T., Leyval, C., 2016. The bacterial and fungal diversity of an aged PAH- and heavy metal-contaminated soil is affected by plant cover and edaphic parameters. *Microb. Ecol.* 71, 711–724.
- Bourceret, A., Leyval, C., De Fouquet, C., Cébron, A., 2015. Mapping the centimeter-scale spatial variability of PAHs and microbial populations in the rhizosphere of two plants. *PLoS ONE*, 10, e0142851.
- Bowen, G., Rovira, A., 1961. Plant growth in irradiated soil. *Nature* 192, 936–937.
- Bowker, M.A., Maestre, F.T., Escobar, C., 2010. Biological crusts as a model system for examining the biodiversity-ecosystem function relationship in soils. *Soil Biol. Biochem.* 42, 405–417.
- Braak, C.J.F. Ter, Oct, N., 1986. Canonical Correspondence Analysis : A New Eigenvector Technique for Multivariate Direct Gradient Analysis. *Ecology* 67, 1167–1179.
- Bradshaw, A., 2000. The use of natural processes in reclamation—advantages and difficulties. *Landsc. Urban Plan.* 51, 89–100.
- Braga, A.F.M., Zaiat, M., Silva, G.H.R., Feroso, F.G., 2017. Metal fractionation in sludge from sewage UASB treatment. *J. Environ. Manage.* 193, 98–107.
- Breure, A.M., De Deyn, G.B., Dominati, E., Eglin, T., Hedlund, K., Van Orshoven, J., Posthuma, L., 2012. Ecosystem services: A useful

- concept for soil policy making! *Curr. Opin. Environ. Sustain.* 4, 578–585.
- BRGM, 2017. Sites et sols pollués: Exemples de réhabilitation de site.
- BRGM, 2003. Etat des connaissances sur l'atténuation naturelle : mécanismes et mise en œuvre.
- Briones, M.J.I., 2014. Soil fauna and soil functions: a jigsaw puzzle. *Front. Environ. Sci.* 2, 1–22.
- Broeckling, C.D., Broz, A.K., Bergelson, J., Manter, D.K., Vivanco, J.M., 2008. Root exudates regulate soil fungal community composition and diversity. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 738–744.
- Broughton, F., 1985. The reclamation of derelict land for agriculture: Technical, economic and land-use planning issues. *Landsc. Plan.* 12, 49–74.
- Brown, D.G., Duh, J.-D., 2004. Spatial simulation for translating from land use to land cover. *Int. J. Geogr. Inf. Sci.* 18, 35–60.
- Brown, G.G., 1995. How do earthworms affect microfloral and faunal community diversity? *Plant Soil* 170, 209–231.
- Bruno, D., Gutiérrez-Cénovas, C., Velasco, J., Sánchez-Fernández, D., 2016. Functional redundancy as a tool for bioassessment: A test using riparian vegetation. *Sci. Total Environ.* 566–567, 1268–1276.
- Brussaard, L., Puleman, M.M., Ouédraogo, É., Mando, A., Six, J., 2007. Soil fauna and soil function in the fabric of the food web. *Pedobiologia (Jena)*. 50, 447–462.
- Buckley, D.H., Schmidt, T.M., 2002. Exploring the biodiversity of soil—a microbial rain forest, in: *Biodiversity of Microbial Life: Foundation of Earth's Biosphere*. New York, NY, USA: Wiley-Liss, pp. 183–208.
- Buée, M., Reich, M., Murat, C., Morin, E., Nilsson, R.H., Uroz, S., Martin, F., 2009. 454 Pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpectedly high fungal diversity. *New Phytol.* 184, 449–456.
- Bukvareva, E., 2017. The optimal biodiversity – A new dimension of landscape assessment. *Ecol. Indic.* nd.
- Burel, F., Baudry, J., 1999. *Ecologie du paysage. Concepts, méthodes Appl.* 359.
- Burrow, C., 2015. Influence des modalités de restauration de sols dégradés sur leur colonisation par une faune du sol fonctionnelle. (Doctoral dissertation). University of Lille 1.
- Butera, S., Christensen, T.H., Astrup, T.F., 2014. Composition and leaching of construction and demolition waste: Inorganic elements and organic compounds. *J. Hazard. Mater.* 276, 302–311.
- Butt, K.R., Briones, M.J.I., 2017. Earthworms and mesofauna from an isolated, alkaline chemical waste site in Northwest England. *Eur. J. Soil Biol.* 78, 43–49.
- Cadotte, M.W., Fukami, T., 2005. Dispersal, spatial scale, and species diversity in a hierarchically structured experimental landscape. *Ecol. Lett.* 8, 548–557.
- Çakır, M., Makineci, E., 2017. Community structure and seasonal variations of soil microarthropods during environmental changes. *Appl. Soil Ecol.* nd.
- Caldwell, B.A., 2005. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review. *Pedobiologia (Jena)*. 49, 637–644.
- Callahan, M.A., Richter, D.D., Coleman, D.C., Hofmockel, M., 2006. Long-term land-use effects on soil invertebrate communities in Southern Piedmont soils, USA. *Eur. J. Soil Biol.* 42, S150–S156.
- Campbell, C.D., Chapman, S.J., Cameron, C.M., Davidson, M.S., Potts, J.M., 2003. A rapid microtiter plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon substrate amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 3593–3599.
- Caravaca, F., Ruess, L., 2014. Arbuscular mycorrhizal fungi and their associated microbial community modulated by Collembola grazers in host plant free substrate. *Soil Biol. Biochem.* 69, 25–33.
- Cardinale, B.J., Duffy, J.E., Gonzalez, A., Hooper, D.U., Perrings, C., Venail, P., Narwani, A., Mace, G.M., Tilman, D., Wardle, D.A., Kinzig, A.P., 2012. Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature* 59–67.
- Carpenter, S.R., Mooney, H.A., Agard, J., Capistrano, D., DeFries, R.S., Diaz, S., Dietz, T., Duraipah, A.K., Oteng-Yeboah, A., Pereira, H.M., Perrings, C., Reid, W. V., Sarukhan, J., Scholes, R.J., Whyte, A., 2009. Science for managing ecosystem services: Beyond the Millennium Ecosystem Assessment. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106, 1305–1312.
- Carson, J.K., Gonzalez-Queiroz, V., Murphy, D. V., Hinz, C., Shaw, J.A., Gleeson, D.B., 2010. Low pore connectivity increases bacterial diversity in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 3936–3942.
- Carter, M.R., 2002. Soil quality for sustainable land management. *Agron. J.* 94, 38–47.
- Cassagne, N., Gers, C., Gauquelin, T., 2003. Relationships between Collembola, soil chemistry and humus types in forest stands (France). *Biol. Fertil. Soils* 37, 355–361.
- Castillo-Monroy, A.P., Bowker, M.A., García-Palacios, P., Maestre, F.T., 2014. Aspects of soil lichen biodiversity and aggregation interact to influence subsurface microbial function. *Plant Soil* 386, 303–316.
- CAUELC, 2009. Les délaissés temporaires.
- Cébron, A., Beguiristain, T., Faure, P., Norini, M.-P., Masfaraud, J.-F., Leyval, C., 2009. Influence of vegetation on the in situ bacterial community and polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) degraders in aged PAH-contaminated or thermal-desorption-treated soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 6322–6330.
- Cébron, A., Cortet, J., Criquet, S., Biaz, A., Calvert, V., Caupert, C., Pernin, C., Leyval, C., 2011. Biological functioning of PAH-polluted and thermal desorption-treated soils assessed by fauna and microbial bioindicators. *Res. Microbiol.* 162, 897–907.
- 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. *J. Microbiol. Methods* 73, 148–159.
- Cerqueira, B., Vega, F.A., Silva, L.F.O., Andrade, L., 2012. Effects of vegetation on chemical and mineralogical characteristics of soils developed on a decantation bank from a copper mine. *Sci. Total Environ.* 421–422, 220–229.
- Cesarz, S., Reich, P.B., Scheu, S., Ruess, L., Schaefer, M., Eisenhauer, N., 2015. Nematode functional guilds, not trophic groups, reflect shifts in soil food webs and processes in response to interacting global change factors. *Pedobiologia (Jena)*. 58, 23–32.
- CGDD, 2015. Le point sur l'occupation des sols en France, L'occupation des sols en France : progression plus modérée de l'artificialisation entre 2006 et 2012.
- Chadha, N., Mishra, M., Prasad, R., Varma, A., 2014. Root endophytic fungi: Research update. *J. Biol. Life Sci.* 5, 135.
- Chae, Y., Cui, R., Woong Kim, S., An, G., Jeong, S.W., An, Y.J., 2017. Exoenzyme activity in contaminated soils before and after soil washing: β -glucosidase activity as a biological indicator of soil health. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 135, 368–374.
- Chapin, F. S., Walker, L. R., Fastie, C. L., & Sharman, L. C. (1994). Mechanisms of primary succession following deglaciation at Glacier Bay, Alaska. *Ecological Monographs*, 64, 149–175.
- Chen, X., Liu, M., Hu, F., Mao, X., Li, H., 2007. Contributions of soil micro-fauna (protozoa and nematodes) to rhizosphere ecological

- functions. *Acta Ecol. Sin.* 27, 3132–3143.
- Chen, Y., Xu, T., Veresoglou, S.D., Hu, H., Hao, Z., Hu, Y., Liu, L., Deng, Y., Rillig, M.C., Chen, B., 2017. Plant diversity represents the prevalent determinant of soil fungal community structure across temperate grasslands in northern China. *Soil Biol. Biochem.* 110, 12–21.
- Chevone, F., Doleadec, S., Chessel, D., 1994. A fuzzy coding approach for the analysis of long-term ecological data. *Freshw. Biol.* 31, 295–309.
- Chinery, M., Legrand, J., 2005. *Insectes de France et d'Europe occidentale*. Flammarion.
- Cho, H., Kim, M., Tripathi, B., Adams, J., 2017. Changes in soil fungal community structure with increasing disturbance frequency. *Microb. Ecol.* 74, 62–77.
- Chodak, M., Gołębiewski, M., Morawska-Płoskonka, J., Kuduk, K., Niklińska, M., 2013. Diversity of microorganisms from forest soils differently polluted with heavy metals. *Appl. Soil Ecol.* 64, 7–14.
- Cihlar, J., Jansen, L.J.M., 2001. From land cover to land use: a methodology for efficient land use mapping over large areas. *Prof. Geogr.* 53, 275–289.
- Clarholm, M., 1985. Interactions of bacteria, protozoa and plants leading to mineralization of soil nitrogen. *Soil Biol. Biochem.* 17, 181–187.
- Clavel, J., Julliard, R., Devictor, V., 2011. Worldwide decline of specialist species: Toward a global functional homogenization? *Front. Ecol. Environ.* 9, 222–228.
- Cluzeau, D., Guernion, M., Chaussod, R., Martin-Laurent, F., Villenave, C., Cortet, J., Ruiz-Camacho, N., Pernin, C., Maitelle, T., Philippot, L., Bellido, A., Rougé, L., Arrouays, D., Bispo, A., Pérès, G., 2012. Integration of biodiversity in soil quality monitoring: Baselines for microbial and soil fauna parameters for different land-use types. *Eur. J. Soil Biol.* 49, 63–72.
- Cole, L., Bradford, M.A., Shaw, P.J.A., Bardgett, R.D., 2006. The abundance, richness and functional role of soil meso- and macrofauna in temperate grassland-A case study. *Appl. Soil Ecol.* 33, 186–198.
- Cole, L., Dromph, K.M., Boaglio, V., Bardgett, R.D., 2004. Effect of density and species richness of soil mesofauna on nutrient mineralisation and plant growth. *Biol. Fertil. Soils* 39, 337–343.
- Comber, A.J., Wadsworth, R.A., Fisher, P.F., 2008. Using semantics to clarify the conceptual confusion between land cover and land use: the example of “forest.” *J. Land Use Sci.* 3, 185–198.
- Corgié, S.C., Fons, F., Beguiristain, T., Leyval, C., 2006. Biodegradation of phenanthrene, spatial distribution of bacterial populations and dioxygenase expression in the mycorrhizosphere of *Lolium perenne* inoculated with *Glomus mosseae*. *Mycorrhiza* 16, 207–212.
- Cortet, J., Béguiristain, T., Charissou, A.-M., Chenot, E.-D., Corbel, S., Cluzeau, D., Hafeez, F., Hedde, M., Leyval, C., Martin-Laurent, F., Masfaraud, J.-F., Nahmani, J., Piron, D., Schwartz, C., Séré, G., Villenave, C., Watteau, F., 2013. Early colonisation of a constructed Technosol by soil organisms after industrial site reclamation, in: *Soils of Urban, Industrial, Traffic, Mining and Military Areas. SUITMA 7*. Toruń, 16–20 September 2013. International Union of Soil Sciences (IUSS), pp. 119–120.
- Cortet, J., Béguiristain, T., Charissou, A.-M., Cluzeau, D., Hedde, M., Leyval, C., Masfaraud, J.-F., Martin-Laurent, F., Morel, J.-L., Nahmani, J., others, 2010. The BIOTECHNOSOL project: biological dynamics and functioning of a constructed Technosol at the field scale. International Union of Soil Sciences (IUSS), c/o Institut für Bodenforschung, Universität für Bodenkultur, pp. 64–65.
- Cortet, J., Joffre, R., Elmholt, S., Krogh, P.H., 2003. Increasing species and trophic diversity of mesofauna affects fungal biomass, mesofauna community structure and organic matter decomposition processes. *Biol. Fertil. Soils* 37, 302–312.
- Cortet, J., Vauflery, A.G.-D., Poinot-Balaguer, N., Gomot, L., Texier, C., Cluzeau, D., 1999. The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *Eur. J. Soil Biol.* 35, 115–134.
- Costa-Milanez, C.B. da, Majer, J.D., Castro, P. de T.A., Ribeiro, S.P., 2017. Influence of soil granulometry on average body size in soil ant assemblages: implications for bioindication. *Perspect. Ecol. Conserv.* 15, 102–108.
- Costa, D., Timmermans, M.J.T.N., Sousa, J.P., Ribeiro, R., Roelofs, D., Van Straalen, N.M., 2013. Genetic structure of soil invertebrate populations: Collembolans, earthworms and isopods. *Appl. Soil Ecol.* 68, 61–66.
- Costa, R., Götz, M., Mroczek, N., Lottmann, J., Berg, G., Smalla, K., 2006. Effects of site and plant species on rhizosphere community structure as revealed by molecular analysis of microbial guilds. *FEMS Microbiol. Ecol.* 56, 236–249.
- Covino, S., Stella, T., D'Annibale, A., Lladó, S., Baldrian, P., Čvančarová, M., Cajthaml, T., Petruccioli, M., 2016. Comparative assessment of fungal augmentation treatments of a fine-textured and historically oil-contaminated soil. *Sci. Total Environ.* 566–567, 250–259.
- Cragg, R.G., Bardgett, R.D., 2001. How changes in soil faunal diversity and composition within a trophic group influence decomposition processes. *Soil Biol. Biochem.* 33, 2073–2081.
- Creamer, R.E., Hannula, S.E., Leeuwen, J.P.V., Stone, D., Rutgers, M., Schmelz, R.M., Ruiter, P.C. d., Hendriksen, N.B., Bolger, T., Bouffaud, M.L., Buee, M., Carvalho, F., Costa, D., Dirilgen, T., Francisco, R., Griffiths, B.S., Griffiths, R., Martin, F., Silva, P.M. da, Mendes, S., Morais, P.V., Pereira, C., Philippot, L., Plassart, P., Redecker, D., Römbke, J., Sousa, J.P., Wouterse, M., Lemanceau, P., 2016. Ecological network analysis reveals the inter-connection between soil biodiversity and ecosystem function as affected by land use across Europe. *Appl. Soil Ecol.* 97, 112–124.
- Crecchio, C., Curci, M., Pizzigallo, M.D.R., Ricciuti, P., Ruggiero, P., 2004. Effects of municipal solid waste compost amendments on soil enzyme activities and bacterial genetic diversity. *Soil Biol. Biochem.* 36, 1595–1605.
- Crisp, M.D., Cook, L.G., 2012. Phylogenetic niche conservatism: what are the underlying evolutionary and ecological causes? *New Phytol.* 196, 681–694.
- Crone, M., 2001. Diagnostic de sols pollués par des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) à l'aide de la spectrophotométrie UV. Doctoral dissertation. Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne ; INSA de Lyon.
- Crossley, D.A., 1992. Biodiversity of microarthropods in agricultural soils: relations to processes. *Agric. Ecosyst. Environ.* 40, 37–46.
- Cruaud, P., Rasplus, J.-Y., Rodriguez, L.J., Cruaud, A., 2017. High throughput sequencing of multiple amplicons for barcoding and integrative taxonomy. *Sci. Rep.* 7, 41948.
- Crutzen, P., 2002. The “anthropocene.” *J. Phys.* IV 12, 2–6.
- Cui, M., Caldwell, M.M., 1996. Facilitation of plant phosphate acquisition by arbuscular mycorrhizas from enriched soil patches. *New Phytol.* 133, 453–460.
- Culman, S.W., Young-Mathews, A., Hollander, A.D., Ferris, H., Sánchez-Moreno, S., O'Geen, A.T., Jackson, L.E., 2010. Biodiversity is associated with indicators of soil ecosystem functions over a landscape gradient of agricultural intensification. *Landsc. Ecol.* 25,

1333–1348.

- Cundy, A.B., Bardos, R.P., Puschenreiter, M., Mench, M., Bert, V., Friesl-Hanl, W., Müller, I., Li, X.N., Weyens, N., Witters, N., Vangronsveld, J., 2016. Brownfields to green fields: Realising wider benefits from practical contaminant phytomanagement strategies. *J. Environ. Manage.* 186, 67–77.
- Curtis, T.P., Sloan, W.T., Scannell, J.W., 2002. Estimating prokaryotic diversity and its limits. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99, 10494–10499.
- D’Annibale, A., Sechi, V., Larsen, T., Christensen, S., Krogh, P.H., Eriksen, J., 2017. Does introduction of clover in an agricultural grassland affect the food base and functional diversity of Collembola? *Soil Biol. Biochem.* 112, 165–176.
- Dabert, M., Witalinski, W., Kazmierski, A., Olszanowski, Z., Dabert, J., 2010. Molecular phylogeny of acariform mites (Acari, Arachnida): Strong conflict between phylogenetic signal and long-branch attraction artifacts. *Mol. Phylogenet. Evol.* 56, 222–241.
- Dai, J., Becquer, T., Rouiller, J.H., Reversat, G., Bernhard-Reversat, F., Nahmani, J., Lavelle, P., 2004. Heavy metal accumulation by two earthworm species and its relationship to total and DTPA-extractable metals in soils. *Soil Biol. Biochem.* 36, 91–98.
- Dangi, S.R., Stahl, P.D., Wick, A.F., Ingram, L.J., Buyer, J.S., 2012. Soil microbial community recovery in reclaimed soils on a surface coal mine site. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 76, 915–924.
- Danielsen, L., Thürmer, A., Meinicke, P., Buée, M., Morin, E., Martin, F., Pilate, G., Daniel, R., Polle, A., Reich, M., 2012. Fungal soil communities in a young transgenic poplar plantation form a rich reservoir for fungal root communities. *Ecol. Evol.* 2, 1935–1948.
- Darmendrail, D.J., Barbier, J., Freyssinet, P., Mouvet, C., Salpéteur, I., Warver, P., 2000. Fonds géochimique naturel: Etat des connaissances à l’échelle nationale. *Brgm/Rp-50518-Fr.* 93.
- Davies, G.M., Waldron, S., Scott, E.M., Gray, A., Grau-andr, R., 2017. Leaving moss and litter layers undisturbed reduces the short-term environmental consequences of heathland managed burns 204, 102–110.
- De Andrade, R.B., Barlow, J., Louzada, J., Mestre, L., Silveira, J., Vaz-De-Mello, F.Z., Cochrane, M.A., 2014. Biotic congruence in humid tropical forests: A multi-taxa examination of spatial distribution and responses to forest disturbance. *Ecol. Indic.* 36, 572–581.
- De Castro, A.P., Quirino, B.F., Pappas, G., Kurokawa, A.S., Neto, E.L., Krüger, R.H., 2008. Diversity of soil fungal communities of Cerrado and its closely surrounding agriculture fields. *Arch. Microbiol.* 190, 129–139.
- De Groot, R.S., Wilson, M.A., Boumans, R.M.J., 2002. A typology for the classification, description and valuation of ecosystem functions, goods and services. *Ecol. Econ.* 41, 393–408.
- De Vries, F.T., Hoffland, E., van Eekeren, N., Brussaard, L., Bloem, J., 2006. Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen management. *Soil Biol. Biochem.* 38, 2092–2103.
- De Vries, F.T., Manning, P., Tallowin, J.R.B., Mortimer, S.R., Pilgrim, E.S., Harrison, K.A., Hobbs, P.J., Quirk, H., Shipley, B., Cornelissen, J.H.C., Kattge, J., Bardgett, R.D., 2012. Abiotic drivers and plant traits explain landscape-scale patterns in soil microbial communities. *Ecol. Lett.* 15, 1230–1239.
- Decaëns, T., Jiménez, J.J., Gioia, C., Measey, G.J., Lavelle, P., 2006. The values of soil animals for conservation biology. *Eur. J. Soil Biol.* 42, S23–S38.
- Deeb, M., Grimaldi, M., Lerch, T.Z., Pando, A., Gigon, A., Blouin, M., Cedex, B., 2016. Interactions between organisms and parent materials of a constructed Technosol shape its hydrostructural properties 163–174.
- Degens, B.P., Harris, J.A., 1997. Development of a physiological approach to measuring the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biol. Biochem.* 29, 1309–1320.
- Deharveng, L., 2004. Recent advances in Collembola systematics. *Pedobiologia (Jena)*. 48, 415–433.
- Del Río, J.C., Speranza, M., Gutiérrez, A., Martínez, M.J., Martínez, A.T., 2002. Lignin attack during eucalypt wood decay by selected basidiomycetes: A Py-GC/MS study. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 64, 421–431.
- Del Val, C., Barea, J.M., Azcón-Aguilar, C., 1999. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungus populations in heavy-metal-contaminated soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 718–723.
- Delmont, T.O., Prestat, E., Keegan, K.P., Faubladier, M., Robe, P., Clark, I.M., Pelletier, E., Hirsch, P.R., Meyer, F., Gilbert, J.A., 2012. Structure, fluctuation and magnitude of a natural grassland soil metagenome. *ISME J.* 6, 1677–1687.
- Delord, J., 2014. Chapitre 3. La biodiversité : imposture scientifique ou ruse épistémologique ?, in: *La biodiversité en question, Sciences & philosophie*. Editions Matériologiques, Paris, pp. 83–116.
- Deng, H., 2012. A review of diversity-stability relationship of soil microbial community: What do we not know? *J. Environ. Sci. (China)* 24, 1027–1035.
- Deng, L., Zeng, G., Fan, C., Lu, L., Chen, X., Chen, M., Wu, H., He, X., He, Y., 2015. Response of rhizosphere microbial community structure and diversity to heavy metal co-pollution in arable soil. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 99, 8259–8269.
- Dermont, G., Bergeron, M., Richer-Lafleche, M., Mercier, G., 2010. Remediation of metal-contaminated urban soil using flotation technique. *Sci. Total Environ.* 408, 1199–1211.
- Desalme, D., Binet, P., Epron, D., Bernard, N., Gilbert, D., Toussaint, M.L., Plain, C., Chiapusio, G., 2011. Atmospheric phenanthrene pollution modulates carbon allocation in red clover (*Trifolium pratense* L.). *Environ. Pollut.* 159, 2759–2765.
- Detheridge, A.P., Brand, G., Fychan, R., Crotty, F. V., Sanderson, R., Griffith, G.W., Marley, C.L., 2016. The legacy effect of cover crops on soil fungal populations in a cereal rotation. *Agric. Ecosyst. Environ.* 228, 49–61.
- Development Core Team, R., 2015. A language and environment for statistical computing. Austria, Vienna : the R foundation for statistical computing.
- Díaz-Raviña, M., Bååth, E., 1996. Development of metal tolerance in soil bacterial communities exposed to experimentally increased metal levels. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 2970–2977.
- Dickinson, N., 2003. Soil degradation and nutrients, in: *The Restoration and Management of Derelict Land: Modern Approaches*. World Scientific, pp. 50–65.
- Didon, U.M.E., Hansson, M.L., 2002. Competition between Six Spring Barley (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare* L.) Cultivars and Two Weed Flora in Relation to Interception of Photosynthetic Active Radiation. *Biol. Agric. Hortic.* 20, 257–274.
- Diels, L., Dong, Q., Lelie, D., Baeyens, W., Mergeay, M., 1995. The *czc* operon of *Alcaligenes eutrophus* CH34: from resistance mechanism to the removal of heavy metals. *J. Ind. Microbiol.* 14, 142–153.
- Dodd, J.C., Dougall, T.A., Clapp, J.P., Jeffries, P., 2002. The role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant community establishment at Samphire Hoe, Kent, UK - The reclamation platform created during the building of the Channel tunnel between France and the UK. *Biodivers. Conserv.* 11, 39–58.
- Doledec, S., Chessel, D., 1994. Co-inertia analysis: an alternative method for studying species-environment relationships. *Freshwater Biology* 31:277–294. *Freshw. Biol.* 31, 277–294.

- Dolédéc, S., Chessel, D., ter Braak, C.J.F., Champely, S., 1996. Matching species traits to environmental variables: a new three-table ordination method. *Environ. Ecol. Stat.* 3, 143–166.
- Dominati, E., Patterson, M., Mackay, A., 2010. A framework for classifying and quantifying the natural capital and ecosystem services of soils. *Ecol. Econ.* 69, 1858–1868.
- Doran, J.W., 2002. Soil health and global sustainability: Translating science into practice. *Agric. Ecosyst. Environ.* 88, 119–127.
- Doran, J.W., Zeiss, M.R., 2000. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Appl. Soil Ecol.* 15, 3–11.
- Dray, S., Chessel, D., Thioulouse, J., 2003. Co-inertia analysis and the linking of ecological data tables. *Ecology* 84, 3078–3089.
- Dray, S., Dufour, A.B., 2007. The ade4 Package: Implementing the duality diagram for ecologists. *J. Stat. Softw.* 22, 1–20.
- Dromph, K.M., 2003. Collembolans as vectors of entomopathogenic fungi. *Pedobiologia (Jena)* 47, 245–256.
- Dudka, S., Adriano, D.C., 1997. Environmental impacts of metal ore mining and processing: A review. *J. Environ. Qual.* 26, 590.
- Duflot, R., Georges, R., Ernout, A., Aviron, S., Burel, F., 2014. Landscape heterogeneity as an ecological filter of species traits. *Acta Oecologica* 56, 19–26.
- Duigou, N., Baize, D., Bispo, A., 2011. Utilisation de la base de données BDETM pour obtenir des valeurs de références locales en Éléments Traces Métalliques. *Cas de la région Centre*.
- Dunger, W., Schlitt, B., 2011. Synopses on Palaearctic Collembola – Tullbergiidae. *Senckenberg, Museum of Natural History*.
- Dunger, W., Schulz, H., Zimdars, B., 2002. Colonization behaviour of Collembola under different conditions of dispersal. *Pedobiologia (Jena)* 46, 316–327.
- Dunger, W., Voigtländer, K., 2009. Soil fauna (Lumbricidae, Collembola, Diplopoda and Chilopoda) as indicators of soil eco-subsystem development in post-mining sites of eastern Germany – a review. *Soil Org.* 81, 1–51.
- Edgar, R.C., Haas, B.J., Clemente, J.C., Quince, C., Knight, R., 2011. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics* 27, 2194–2200.
- Edrisi, S.A., Abhilash, P.C., 2016. Exploring marginal and degraded lands for biomass and bioenergy production: An Indian scenario. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 54, 1537–1551.
- Eggleton, P., Vanbergen, A.J., Jones, D.T., Lambert, M.C., Hammond, P.M., Beccaloni, J., Marriott, D., Ross, E., Rockett, C., 2005. Assemblages of soil macrofauna across a Scottish land-use intensification gradient: influences of habitat quality, heterogeneity and area. *J. Appl. Ecol.* 42, 1153–1164.
- Egidi, E., McMullan-Fisher, S., Morgan, J.W., May, T., Zeeman, B., Franks, A.E., 2016. Fire regime, not time-since-fire, affects soil fungal community diversity and composition in temperate grasslands. *FEMS Microbiol. Lett.* 363, 1–11.
- Ehsan, M., Barakat, M. A., Husein, D. Z., & Ismail, S. M., 2014. Immobilization of Ni and Cd in soil by biochar derived from unfertilized dates. *Water, Air, & Soil Pollution*, 225, 2123.
- Eijsackers, H., 2010. Earthworms as colonisers: Primary colonisation of contaminated land, and sediment and soil waste deposits. *Sci. Total Environ.* 408, 1759–1769.
- Eijsackers, H., 1983. Soil fauna and soil microflora as possible indicators of soil pollution. *Environ. Monit. Assess.* 3, 307–16.
- Eisenhauer, N., 2010. The action of an animal ecosystem engineer: Identification of the main mechanisms of earthworm impacts on soil microarthropods. *Pedobiologia (Jena)* 53, 343–352.
- Ekelund, F., Olsson, S., Johansen, A., 2003. Changes in the succession and diversity of protozoan and microbial populations in soil spiked with a range of copper concentrations. *Soil Biol. Biochem.* 35, 1507–1516.
- El-Mohdy, H.L.A., 2017. Radiation-induced degradation of sodium alginate and its plant growth promotion effect. *Arab. J. Chem.* 10, S431–S438.
- El Khalil, H., Schwartz, C., El Hamiani, O., Kubiniok, J., Morel, J.L., Boularbah, A., 2013. Distribution of major elements and trace metals as indicators of technosolisation of urban and suburban soils. *J. soils sediments* 13, 519–530.
- El Khalil, H., Schwartz, C., Elhamiani, O., Kubiniok, J., Morel, J.L., Boularbah, A., 2008. Contribution of technic materials to the mobile fraction of metals in urban soils in Marrakech (Morocco). *J. Soils Sediments* 8, 17–22.
- Endlweber, K., Ruess, L., Scheu, S., 2009. Collembola switch diet in presence of plant roots thereby functioning as herbivores. *Soil Biol. Biochem.* 41, 1151–1154.
- Endlweber, K., Scheu, S., 2007. Interactions between mycorrhizal fungi and Collembola: Effects on root structure of competing plant species. *Biol. Fertil. Soils* 43, 741–749.
- Endlweber, K., Scheu, S., 2006. Effects of Collembola on root properties of two competing ruderal plant species. *Soil Biol. Biochem.* 38, 2025–2031.
- Eriksson, K.-E.L., Blanchette, R.A., Ander, P., 1990. Morphological aspects of wood degradation by fungi and bacteria, Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components. Springer.
- Erstfeld, K.M., Snow-Ashbrook, J., 1999. Effects of chronic low-level PAH contamination on soil invertebrate communities. *Chemosphere* 39, 2117–2139.
- Eyre, M.D., Luff, M.L., Woodward, J.C., 2003. Beetles (Coleoptera) on brownfield sites in England: An important conservation resource? *J. Insect Conserv.* 7, 223–231.
- FAO, 2015. Soil is a non-renewable resource, Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- FAO, 2005. Land degradation assessment in drylands, Seventh session of the Conference of the Parties, item 10 of the provisional agenda.
- Faulkner, B.C., Lochmiller, R.L., 2000. Increased abundance of terrestrial isopod populations in terrestrial ecosystems contaminated with petrochemical wastes. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 39, 86–90.
- Felske, A., Akkermans, A.D.L., De Vos, W.M., 1998a. Quantification of 16S rRNAs in complex bacterial communities by multiple competitive reverse transcription-PCR in temperature gradient gel electrophoresis fingerprints. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 4581–4587.
- Felske, A., Wolterink, A., Lis, R. van, Antoon, D., Akkermans, L., 1998b. Phylogeny of the main bacterial 16S rRNA sequences in drentse a grassland soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 871–879.
- Filho, L.C.I. de O., Filho, O.K., Baretta, D., Tanaka, C.A.S., Sousa, J.P., 2016. Collembola community structure as a tool to assess land use effects on soil quality. *Rev. Bras. Cienc. do Solo* 40:e015043, 1–18.
- Filser, J., Mebes, K.H., Winter, K., Lang, A., Kampichler, C., 2002. Long-term dynamics and interrelationships of soil Collembola and microorganisms in an arable landscape following land use change. *Geoderma* 105, 201–221.
- Fjellberg, A., 2007. Checklist of Nordic Collembola With notes on habitat preferences and presence/absence in individual countries.

www.collembola.org.

- Fortin, J.A., Plenchette, C., Piché, Y., 2016. Les mycorrhizes: l'essor de la nouvelle révolution verte. Editions Quae.
- Foulon, J., Zappellini, C., Durand, A., Valot, B., Girardclos, O., Blaudez, D., Chalot, M., 2016. Environmental metabarcoding reveals contrasting microbial communities at two poplar phytomanagement sites. *Sci. Total Environ.* 571, 1230–1240.
- Fountain, M., Hopkin, S., 2004. Biodiversity of Collembola in urban soils and the use of *Folsomia candida* to assess soil "quality" 44, 555–572.
- Fountain, M.T., Hopkin, S.P., 2004. A comparative study of the effects of metal contamination on Collembola in the field and in the laboratory. *Ecotoxicology* 13, 573–587.
- Foy, C.D., 1992. Soil chemical factors limiting plant root growth, in: *Limitations to Plant Root Growth*. Springer, pp. 97–149.
- Frampton, G.K., Van den Brink, P.J., Gould, P.J.L., 2000. Effects of spring precipitation on a temperate arable collembolan community analysed using Principal Response Curves. *Appl. Soil Ecol.* 14, 231–248.
- Franks, C., Goings, K., 1997. Above-ground biomass (plant) determinations.
- Frouz, J., 2017. Effects of soil macro- and mesofauna on litter decomposition and soil organic matter stabilization. *Geoderma* 0–1.
- Frouz, J., Jílková, V., Cajthaml, T., Pižl, V., Tajovský, K., Háněl, L., Burešová, A., Šimáčková, H., Kolaříková, K., Franklin, J., Nawrot, J., Groninger, J.W., Stahl, P.D., 2013. Soil biota in post-mining sites along a climatic gradient in the USA: Simple communities in shortgrass prairie recover faster than complex communities in tallgrass prairie and forest. *Soil Biol. Biochem.* 67, 212–225.
- Frouz, J., Keplin, B., Pižl, V., Tajovsky, K., Stary, J., Luksesova, A., Novakowa, A., Balik, V., Hanel, L., Materna, J., Duker, C., Chalupski, J., Rusek, J., Heinkele, T., 2001. Soil biota and upper soil layer development in two contrasting post-mining chronosequences. *Ecol. Eng.* 17, 275–284.
- Frouz, J., Pižl, V., Tajovský, K., 2007. The effect of earthworms and other saprophagous macrofauna on soil microstructure in reclaimed and un-reclaimed post-mining sites in Central Europe. *Eur. J. Soil Biol.* 43, 184–189.
- Frouz, J., Prach, K., Pižl, V., Háněl, L., Starý, J., Tajovský, K., Materna, J., Balík, V., Kalčík, J., Řehounková, K., 2008. Interactions between soil development, vegetation and soil fauna during spontaneous succession in post mining sites. *Eur. J. Soil Biol.* 44, 109–121.
- Fry, B., 2006. *Stable Isotope Ecology*. Springer New York, New York, NY.
- Gaertner, J.C., Mériot, B., Rélini, G., Bertrand, J.A., Mazouni, N., Politou, C.Y., Gil De Sola, L., Kallianiotis, A., Carpentieri, P., Murenu, M., Durbec, J.P., Vrgoc, N., Ungaro, N., 2010. Reproducibility of the multi-component aspect of species diversity across different areas and scales: Towards the constitution of a shortlist of complementary indices for monitoring fish diversity? *Ecography (Cop.)* 33, 1123–1135.
- Gamper, H., Peter, M., Jansa, J., Lüscher, A., Hartwig, U.A., Leuchtmann, A., 2004. Arbuscular mycorrhizal fungi benefit from 7 years of free air CO₂ enrichment in well-fertilized grass and legume monocultures. *Glob. Chang. Biol.* 10, 189–199.
- Gange, A., 2000. Arbuscular mycorrhizal fungi, Collembola and plant growth. *Trends Ecol. Evol.* 15, 369–372.
- Gange, A.C., Brown, V., 2002. Soil food web components affect plant community structure during early succession. *Ecol. Res.* 17, 217–227.
- Gao, Q., Yang, Z.L., 2016. Diversity and distribution patterns of root-associated fungi on herbaceous plants in alpine meadows of southwestern China. *Mycologia* 108, 281–291.
- Garbeva, P. V., Van Veen, J. A., & Van Elsas, J. D. 2004. Microbial diversity in soil: selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42, 243–270.
- García-Ruiz, R., Ochoa, V., Viñeola, B., Hinojosa, M.B., Peña-Santiago, R., Liébanas, G., Linares, J.C., Carreira, J.A., 2009. Soil enzymes, nematode community and selected physico-chemical properties as soil quality indicators in organic and conventional olive oil farming: Influence of seasonality and site features. *Appl. Soil Ecol.* 41, 305–314.
- García-Segura, D., Castillo-Murrieta, I.M., Martínez-Rabelo, F., Gomez-Anaya, A., Rodríguez-Campos, J., Hernández-Castellanos, B., Contreras-Ramos, S.M., Barois, I., 2017. Macrofauna and mesofauna from soil contaminated by oil extraction. *Geoderma* 0–1.
- Gardi, C., Montanarella, L., Arrouays, D., 2009. Soil biodiversity monitoring in Europe: ongoing activities and challenges. *Eur. J.*
- Gardi, C., Tomaselli, M., Parisi, V., Petraglia, A., Santini, C., 2002. Soil quality indicators and biodiversity in northern Italian permanent grasslands 38, 103–110.
- Gardiner, M.M., Burkman, C.E., Prajzner, S.P., 2013. The value of urban vacant land to support arthropod biodiversity and ecosystem services. *Environ. Entomol.* 42, 1123–1136.
- Gardiner, M.M., Prajzner, S.P., Burkman, C.E., Albro, S., Grewal, P.S., 2014. Vacant land conversion to community gardens: Influences on generalist arthropod predators and biocontrol services in urban greenspaces. *Urban Ecosyst.* 17, 101–122.
- Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M., Roumet, C., 2004. Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology* 85, 2630–2637.
- Garnier, E., Navas, M.L., 2013. Diversité fonctionnelle des plantes. *De boeck*.
- Garrett, S.D., 1963. Soil fungi and soil fertility, *Soil Fungi and Soil Fertility*.
- Garrigues, E., Corson, M.S., Angers, D.A., van der Werf, H.M.G., Walter, C., 2012. Soil quality in Life Cycle Assessment: Towards development of an indicator. *Ecol. Indic.* 18, 434–442.
- Gaur, A., Adholeya, A., 2004. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Curr. Sci.* 86, 528–534.
- Ge, Y., Murray, P., Hendershot, W.H., 2000. Trace metal speciation and bioavailability in urban soils. *Environ. Pollut.* 107, 137–144.
- Geets, J., De Cooman, M., Wittebolle, L., Heylen, K., Vanparys, B., De Vos, P., Verstraete, W., Boon, N., 2007. Real-time PCR assay for the simultaneous quantification of nitrifying and denitrifying bacteria in activated sludge. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 75, 211–221.
- GEF, 2006. Land degradation as a global environmental issue: a synthesis of three studies commissioned by the global environment facility to strengthen the knowledge base to support the land degradation focal area. Washington, DC.
- Gerisch, M., 2014. Non-random patterns of functional redundancy revealed in ground beetle communities facing an extreme flood event. *Funct. Ecol.* 28, 1504–1512.
- Gerlach, J., Samways, M., Pryke, J., 2013. Terrestrial invertebrates as bioindicators: an overview of available taxonomic groups. *J. insect Conserv.* 17, 831–850.
- Gessner, M.O., Chauvet, E., 2002. A case for using litter breakdown to assess functional stream integrity. *Ecol. Appl.* 12, 498–510.
- Gianinazzi, S., Plumey-Jacquot, E., Gianinazzi-Pearson, V., Leyval, C., 2006. Contribution of arbuscular mycorrhiza to soil quality and terrestrial ecotoxicology, in: *Microbiological Methods for Assessing Soil Quality*. CABI, Wallingford, pp. 248–256.
- Giller, K., Witter, E., McGrath, S., 2009. Heavy metals and soil microbes. *Soil Biol. Biochem.* 41, 2031–2037.

- Gillet, S., Ponge, J.F., 2004. Are acid-tolerant Collembola able to colonise metal-polluted soil? *Appl. Soil Ecol.* 26, 219–231.
- Gillet, S., Ponge, J.F., 2003. Changes in species assemblages and diets of Collembola along a gradient of metal pollution. *Appl. Soil Ecol.* 22, 127–138.
- Gillet, S., Ponge, J.F., 2002. Humus forms and metal pollution in soil. *Eur. J. Soil Sci.* 53, 529–539.
- Girard, M.-C., Schwartz, C., Jabiol, B., 2011. Étude des sols : description, cartographie, utilisation. Dunod.
- Girard, M.-C., Walter, C., Rémy, J.-C., Berthelin, J., Morel, J.-L., 2011. Sols et environnement-2e édition. Dunod.
- Giraudoux, P., 2017. Package “pgirmess.” R Packag. version 1.6.7 63.
- Girden, E.R., 1992. ANOVA: Repeated Measures, ANOVA: Repeated Measures. SAGE Publications.
- Gisin, 1960. Collembolen fauna Europas. Museum d'Histoire Naturelle, Genève, Switzerland.
- Gisin, H., 1943. Ökologie und Lebensgemeinschaften der Collembolen im schweizerischen Exkursionsgebiet Basels: Inauguraldissertation. A. Kundig.
- Gliński, J., Lipiec, J., 1990. Soil physical conditions and plant growth. CRC Press Inc.
- Gobat, J.-M., Aragno, M., Matthey, W., 2010. Le sol vivant: bases de pédologie, biologie des sols, 3ème édit. ed. PPUR Presses polytechniques.
- Göhre, V., Paszkowski, U., 2006. Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta* 223, 1115–1122.
- Gomez, E., Ferreras, L., Toresani, S., 2006. Soil bacterial functional diversity as influenced by organic amendment application. *Bioresour. Technol.* 97, 1484–1489.
- Gonneau, C., Genevois, N., Frérot, H., Sirguey, C., Sterckeman, T., 2014. Variation of trace metal accumulation, major nutrient uptake and growth parameters and their correlations in 22 populations of *Nocca caerulea*. *Plant Soil* 384, 271–287.
- Gormsen, D., Olsson, P. al A., Hedlund, K., 2004. The influence of collembolans and earthworms on AM fungal mycelium. *Appl. Soil Ecol.* 27, 211–220.
- Graham, E.B., Wieder, W.R., Leff, J.W., Weintraub, S.R., Townsend, A.R., Cleveland, C.C., Philippot, L., Nemergut, D.R., 2014. Do we need to understand microbial communities to predict ecosystem function? A comparison of statistical models of nitrogen cycling processes. *Soil Biol. Biochem.* 68, 279–282.
- Green, V.S., Stott, D.E., Diack, M., 2006. Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: optimization for soil samples. *Soil Biol. Biochem.* 38, 693–701.
- Greenslade, P., Majer, J.D., 1993. Recolonization by Collembola of rehabilitated bauxite mines in Western Australia. *Aust. J. Ecol.* 18, 385–394.
- Gregory, S. J., Anderson, C. W. N., Arbestain, M. C., McManus, M. T. 2014. Response of plant and soil microbes to biochar amendment of an arsenic-contaminated soil. *Agriculture, ecosystems & environment*, 191, 133–141.
- Gros, R., 2002. Fonctionnement et qualité des sols soumis à des perturbations physiques et chimiques d'origine anthropique : réponses du sol, de la flore et de la microflore bactérienne tellurique . Doctoral dissertation. Université de Savoie.
- Grubert, D., Butenschoen, O., Maraun, M., Scheu, S., 2016. Understanding earthworm – Collembola interactions and their importance for ecosystem processes needs consideration of species identity. *Eur. J. Soil Biol.* 77, 60–67.
- Gryndler, M., Beskid, O., Hujšlová, M., Konvalinková, T., Bukovská, P., Zemková, L., Hřelová, H., Jansa, J., 2017. Soil receptivity for ectomycorrhizal fungi: *Tuber aestivum* is specifically stimulated by calcium carbonate and certain organic compounds, but not mycorrhizospheric bacteria. *Appl. Soil Ecol.* 117–118, 38–45.
- Guala, S.D., Vega, F.A., Covelo, E.F., 2010. Heavy metal concentrations in plants and different harvestable parts: A soil-plant equilibrium model. *Environ. Pollut.* 158, 2659–2663.
- Gulvik, M.E., 2007. Mites (Acari) as indicators of soil biodiversity and land use monitoring: a review. *Polish J. Ecol.* 55, 415–440.
- Guo, Y., George, E., Marschner, H., 1996. Contribution of an arbuscular mycorrhizal fungus to the uptake of cadmium and nickel in bean and maize plants. *Plant Soil* 184, 195–205.
- Gupta, P., Diwan, B., 2016. Bacterial Exopolysaccharide mediated heavy metal removal: A Review on biosynthesis, mechanism and remediation strategies. *Biotechnol. Reports* 13, 58–71.
- Habe, H., Omori, T., 2003. Genetics of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism in diverse aerobic bacteria. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67, 225–243.
- Hafeez, F., Martin-Laurent, F., Béguet, J., Bru, D., Cortet, J., Schwartz, C., Morel, J.L., Philippot, L., 2012. Taxonomic and functional characterization of microbial communities in Technosols constructed for remediation of a contaminated industrial wasteland. *J. Soils Sediments* 12, 1396–1406.
- Hågvær, S., Abrahamsen, G., 1980. Colonisation by Enchytraeidae, Collembola and Acari in sterile soil samples with adjusted pH levels. *Oikos* 245–258.
- Hamonts, K., Bissett, A., Macdonald, B.C.T., Barton, P.S., Manning, A.D., Young, A., 2017. Effects of ecological restoration on soil microbial diversity in a temperate grassy woodland. *Appl. Soil Ecol.* 117–118, 117–128.
- Harinikumar, K.M., Bagyaraj, D.J., 1994. Potential of earthworms, ants, millipedes, and termites for dissemination of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Biol. Fertil. Soils* 18, 115–118.
- Haritash, A.K., Kaushik, C.P., 2009. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. *J. Hazard. Mater.* 169, 1–15.
- Harley, J.L., Smith, S.E., 1983. Mycorrhizal symbiosis. First edition. Academic Press Inc.
- Harrington, C.A., 1999. Forests planted for ecosystem restoration or conservation, in: *Planted Forests: Contributions to the Quest for Sustainable Societies*. Springer, pp. 175–190.
- Harris, K.K., Boerner, R.E.J., 1990. Effects of belowground grazing by collembola on growth, mycorrhizal infection, and P uptake of *Geranium robertianum*. *Plant Soil* 129, 203–210.
- Harrison, C., Davies, G., 2002. Conserving biodiversity that matters: practitioners’ perspectives on brownfield development and urban nature conservation in London. *J. Environ. Manage.* 65, 95–108.
- Hartley, W., Riby, P., Waterson, J., 2016. Effects of three different biochars on aggregate stability, organic carbon mobility and micronutrient bioavailability. *J. Environ. Manage.* 181, 770–778.
- Hassan, S.E.D., Boon, E., St-Arnaud, M., Hijri, M., 2011. Molecular biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in trace metal-polluted soils. *Mol. Ecol.* 20, 3469–3483.
- Hättenschwiler, S., Tiunov, A. V., Scheu, S., 2005. Biodiversity and litter decomposition in terrestrial ecosystems. *Annu. Rev. Ecol.*

- Evol. Syst. 191–218.
- Havlicek, E., 2012. Soil biodiversity and bioindication: From complex thinking to simple acting. *Eur. J. Soil Biol.* 49, 80–84.
- Hedde, M., Pey, B., Auclerc, A., Capowiez, Y., Cluzeau, D., 2012. BETSI, a complete framework for studying soil invertebrate functional traits. *XVI ICSZ-International Colloq. Soil Zool.* np.
- Hedde, M., van Oort, F., Renouf, E., Thénard, J., Lamy, I., 2013. Dynamics of soil fauna after plantation of perennial energy crops on polluted soils. *Appl. Soil Ecol.* 66, 29–39.
- Hedde, Van Oort, F., Lamy, I., 2012. Functional traits of soil invertebrates as indicators for exposure to soil disturbance. *Environ. Pollut.* 164, 59–65.
- Hedlund, K., Santa Regina, I., Van der Putten, W.H., Leps, J., Diaz, T., Korthals, G.W., Lavorel, S., Brown, V.K., Gormsen, D., Mortimer, S.R., Rodriguez Barrueco, C., Roy, J., Smilauer, P., Smilauerova, M., Van Dijk, C., 2003. Plant species diversity, plant biomass and responses of the soil community on abandoned land across Europe: idiosyncrasy or above-belowground time lags. *Oikos* 103, 45–58.
- Heggo, A., Angle, J., Chaney, R., 1990. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metal uptake by soybeans. *Soil Biol. Biochem.* 22, 865–869.
- Heiniger, C., Barot, S., Ponge, J.F., Salmon, S., Meriguet, J., Carmignac, D., Suillerot, M., Dubs, F., 2015. Collembolan preferences for soil and microclimate in forest and pasture communities. *Soil Biol. Biochem.* 86, 181–192.
- Heinze, J., Bergmann, J., Rillig, M.C., Joshi, J., 2015. Negative biotic soil-effects enhance biodiversity by restricting potentially dominant plant species in grasslands. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 17, 227–235.
- Heisler, C., Kaiser, E.-A., 1995a. Influence of agricultural traffic and crop management on collembola and microbial biomass in arable soil. *Biol. Fertil. Soils* 19, 159–165.
- Heisler, C., Kaiser, E.A., 1995b. Influence of agricultural traffic and crop management on collembola and microbial biomass in arable soil. *Biol. Fertil. Soils* 19, 159–165.
- Helgason, T., Merryweather, J.W., Denison, J., Wilson, P., Young, J.P.W., Fitter, A.H., 2002. Selectivity and functional diversity in arbuscular mycorrhizas of co-occurring fungi and plants from a temperate deciduous woodland. *J. Ecol.* 90, 371–384.
- Hendrychová, M., 2008. Reclamation success in post-mining landscapes in the Czech Republic: a review of pedological and biological studies. *J. Landsc. Stud.* 1, 63–78.
- Henneron, L., Bernard, L., Hedde, M., Pelosi, C., Villenave, C., Chenu, C., Bertrand, M., Girardin, C., Blanchart, E., 2014. Fourteen years of evidence for positive effects of conservation agriculture and organic farming on soil life. *Agron. Sustain. Dev.* 35, 169–181.
- Heuer, H., Krsek, M., Baker, P., Smalla, K., Wellington, E.M., 1997. Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 3233–3241.
- Heywood, V.H., 1995. Global biodiversity assessment, Environment. ed. Cambridge University Press, Cambridge.
- Hibbett, D. S., Binder, M., Bischoff, J. F., Blackwell, M., Cannon, P. F., Eriksson, O. E., Lumbsch, H. T., 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological research*, 111, 509–547.
- Hildebrandt, U., Regvar, M., Bothe, H., 2007. Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance. *Phytochemistry*.
- Hinojosa, M.B., Carreira, J.A., García-Ruiz, R., Dick, R.P., 2005. Microbial response to heavy metal-polluted soils. *J. Environ. Qual.* 34, 1789–1800.
- Hirsch, P.R., Jones, M.J., McGrath, S.P., Giller, K.E., 1993. Heavy metals from past applications of sewage sludge decrease the genetic diversity of *Rhizobium leguminosarum* biovar trifolii populations. *Soil Biol. Biochem.* 25, 1485–1490.
- Hodobod, J., Barreteau, O., Allen, C., Magda, D., 2016. Managing adaptively for multifunctionality in agricultural systems. *J. Environ. Manage.* 183, 379–388.
- Hodecek, J., Kuras, T., Sipos, J., Dolny, A., 2016. Role of reclamation in the formation of functional structure of beetle communities: A different approach to restoration. *Ecol. Eng.* 94, 537–544.
- Hoeksema, J.D., Chaudhary, V.B., Gehring, C.A., Johnson, N.C., Karst, J., Koide, R.T., Pringle, A., Zabinski, C., Bever, J.D., Moore, J.C., Wilson, G.W.T., Klironomos, J.N., Umbanhowar, J., 2010. A meta-analysis of context-dependency in plant response to inoculation with mycorrhizal fungi. *Ecol. Lett.* 13, 394–407.
- Hooper, D.U., Bignell, D.E., Brown, V.K., Brussaard, L., Mark Dangerfield, J., Wall, D.H., Wardle, D.A., Coleman, D.C., Giller, K.E., Lavelle, P., Van der putten, W.H., De Ruiter, P.C., Rusek, J., Silver, W.L., Tiedje, J.M., Wolters, V., 2000. Interactions between aboveground and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: Patterns, mechanisms, and feedbacks. *Bioscience* 50, 1049.
- Hopkin, S.P., 1997. Biology of the Springtails (Insecta: Collembola). Oxford University Press.
- Hopkin S.P., 2007. A key to the collembola (springtails) of Britain and Ireland. FSC publications.
- Hothorn, T., Zeileis, A., Farebrother, R.W., Cummins, C., Millo, G., Mitchell, D., 2015. lmerTest: Testing linear regression models. R Packag. version 0.9-34.
- Houben, D., Evrard, L., Sonnet, P., 2013. Mobility, bioavailability and pH-dependent leaching of cadmium, zinc and lead in a contaminated soil amended with biochar. *Chemosphere* 92, 1450–1457.
- Hršelová, H., Chvátalová, I., Vosátka, M., Klír, J., Gryndler, M., 1999. Correlation of abundance of arbuscular mycorrhizal fungi, bacteria and saprophytic microfungi with soil carbon, nitrogen and phosphorus. *Folia Microbiol. (Praha)*. 44, 683–687.
- Hua, J., Jiang, Q., Bai, J., Ding, F., Lin, X., Yin, Y., 2014. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and fungivorous nematodes on the growth and arsenic uptake of tobacco in arsenic-contaminated soils. *Appl. Soil Ecol.* 84, 176–184.
- Huhe, Chen, X., Hou, F., Wu, Y., Cheng, Y., 2017. Bacterial and fungal community structures in Loess Plateau grasslands with different grazing intensities. *Front. Microbiol.* 8, 1–10.
- Hui, N., Jumpponen, A., Francini, G., Kotze, D.J., Liu, X., Romantschuk, M., Strömmer, R., Setälä, H., 2017. Soil microbial communities are shaped by vegetation type and park age in cities under cold climate. *Environ. Microbiol.* 19, 1281–1295.
- Huling, S.G., Pivetz, B.E., 2006. In-situ chemical oxidation. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., the Office of Water.
- Huot, H., 2013. Formation, fonctionnement et évolution d'un Technosol sur des boues sidérurgiques. Doctoral dissertation, University of Lorraine.
- Huot, H., Simonnot, M.-O., Marion, P., Yvon, J., Donato, P., Morel, J.-L., 2013. Characteristics and potential pedogenetic processes of a Technosol developing on iron industry deposits. *J. Soils Sediments* 13, 555–568.
- Hutchinson, J.J., Young, S.D., Black, C.R., West, H.M., 2004. Determining uptake of radio-labile soil cadmium by arbuscular mycorrhizal hyphae using isotopic dilution in a compartmented-pot system. *New Phytol.* 164, 477–484.
- INERIS, 2010. Gestion des sites et sols pollués.

- Ingram, L.J., Schuman, G.E., Stahl, P.D., Spackman, L.K., 2005. Microbial Respiration and Organic Carbon Indicate Nutrient Cycling Recovery in Reclaimed Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 69, 1737.
- Innocenti, G., Ganassi, S., Montanari, M., Branzanti, M.B., Sabatini, M.A., 2009. Response of plant growth to Collembola, arbuscular mycorrhizal and plant pathogenic fungi interactions. *Bull. Insectology* 62, 191–195.
- ISO, 2015. Norme NF ISO 11074 Qualité du sol - Vocabulaire [WWW Document].
- ISO 10390, 1994. Qualité du sol -- Détermination du pH.
- ISO 10694, 1995. Qualité du sol -- Dosage du carbone organique et du carbone total après combustion sèche (analyse élémentaire).
- ISO 11267, 2014. Qualité du sol -- Inhibition de la reproduction de Collembola (*Folsomia candida*) par des contaminants du sol.
- ISO 22036, 2008. Qualité du sol -- Dosage des éléments traces dans des extraits de sol par spectrométrie d'émission atomique avec plasma induit par haute fréquence (ICP-AES).
- ISO 23611-2, 2006a. Qualité du sol - Prélèvement des invertébrés du sol -- Partie 2: Prélèvement et extraction des micro-arthropodes (Collembola et Acarina).
- ISO 23611-2, 2006b. Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 2: Sampling and extraction of micro-arthropods (Collembola and Acarina).
- ISO 23611-5, 2011. Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 5: Sampling and extraction of soil macro-invertebrates.
- IUSS Working Group WRB, 2014. World reference base for soil resources 2014. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps, World Soil Resources Reports No. 106.
- Jakobsen, I., Abbott, L.K., Robson, a. D., 1992. External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. *New Phytol.* 120, 371–380.
- Jakobsen, I., Joner, E., Larsen, J., 1994. Hyphal phosphorus transport a keystone to mycorrhizal enhancement of plant growth, in: *Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems*. pp. 133–146.
- Jakucs, E., 1999. Fungal symbioses. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 46, 193–195.
- Jana, U., Barot, S., Blouin, M., Lavelle, P., Laffray, D., Repellin, A., 2010. Earthworms influence the production of above-and belowground biomass and the expression of genes involved in cell proliferation and stress responses in *Arabidopsis thaliana*. *Soil Biol. Biochem.* 42, 244–252.
- Janoušková, M., Pavlíková, D., Macek, T., Vosátka, M., 2005. Influence of arbuscular mycorrhiza on the growth and cadmium uptake of tobacco with inserted metallothionein gene. *Appl. Soil Ecol.* 29, 209–214.
- Janssen, P.H., 2006. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 1719–1728.
- Janus, A., Pelfrène, A., Heymans, S., Deboffe, C., Douay, F., Waterlot, C., 2015. Elaboration, characteristics and advantages of biochars for the management of contaminated soils with a specific overview on *Miscanthus* biochars. *J. Environ. Manage.* 162, 275–289.
- Jeffery, S., Gardi, C., Jones, A., Montanarella, L., Marmo, L., Miko, L., Ritz, K., Peres, G., Römbke, J., Putten, W.H. van der, 2010. European Atlas of Soil Biodiversity, European Commission, Publications Office of the European Union. Publication Office of the European Union.
- Jeffery, S., Verheijen, F. G., Van Der Velde, M., Bastos, A. C., 2011. A quantitative review of the effects of biochar application to soils on crop productivity using meta-analysis. *Agriculture, ecosystems & environment*, 144, 175–187.
- Jeffries, P., Gianinazzi, S., Perotto, S., Turnau, K., Barea, J.M., 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biol. Fertil. Soils* 37, 1–16.
- Jiang, L., Morin, P.J., 2005. Predator diet breadth influences the relative importance of bottom-up and top-down control of prey biomass and diversity. *Am. Nat.* 165, 350–363.
- Jie, C., Jing-zhang, C., Man-zhi, T., Zi-tong, G., 2002. Soil degradation: a global problem endangering sustainable development. *J. Geogr. Sci.* 12, 243–252.
- Joimel, S., 2015. Biodiversité et caractéristiques physico-chimiques des sols de jardins associatifs urbains français. Doctoral dissertation, University of Lorraine.
- Joimel, S., Cortet, J., Jolivet, C.C., Saby, N.P.A., Chenot, E.D., Branchu, P., Consalès, J.N., Lefort, C., Morel, J.L., Schwartz, C., 2016. Physico-chemical characteristics of topsoil for contrasted forest, agricultural, urban and industrial land uses in France. *Sci. Total Environ.* 545–546, 40–47.
- Joimel, S., Schwartz, C., Hedde, M., Kiyota, S., Krogh, P.H., Nahmani, J., Pérès, G., Vergnes, A., Cortet, J., 2017. Urban and industrial land uses have a higher soil biological quality than expected from physicochemical quality. *Sci. Total Environ.* 584–585, 614–621.
- Jolivet, C., Boulonne, L., Ratié, C., 2006. Manuel du Réseau de Mesures de la Qualité des Sols (RMQS) 187.
- Jonas, J.L., Wilson, G.W.T., White, P.M., Joern, A., 2007. Consumption of mycorrhizal and saprophytic fungi by Collembola in grassland soils. *Soil Biol. Biochem.* 39, 2594–2602.
- Joner, E.J., Leyval, C., 2001. Influence of arbuscular mycorrhiza on clover and ryegrass grown together in a soil spiked with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mycorrhiza* 10, 155–159.
- Joner, E.J., Leyval, C., 1997. Uptake of Cd-109 by roots and hyphae of a *Glomus mosseae* *Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium. *New Phytol.* 135, 353–360.
- Jones, D.L., Rowe, E.C., 2017. Land Reclamation and Remediation, Principles and Practice, in: *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*. pp. 304–310.
- Jones, E.L., Leather, S.R., 2012. Invertebrates in urban areas: A review. *Eur. J. Entomol.* 109, 463–478.
- Jónsson, J.Ö.G., Davíðsdóttir, B., 2016. Classification and valuation of soil ecosystem services. *Agric. Syst.* 145, 24–38.
- Jonsson, L.M., Nilsson, M., Wardle, D.A., Zackrisson, O., 2001. Context dependent effects of ectomycorrhizal species richness on tree seedling productivity. *Oikos* 93, 353–364.
- Jørgensen, H.B., Johansson, T., Canbäck, B., Hedlund, K., Tunlid, A., 2005. Selective foraging of fungi by collembolans in soil. *Biol. Lett.* 1, 243–246.
- Jumpponen, A., Jones, K.L., Mattox, J.D., Yaege, C., 2010. Massively parallel 454-sequencing of fungal communities in *Quercus* spp. ectomycorrhizas indicates seasonal dynamics in urban and rural sites. *Mol. Ecol.* 19, 41–53.
- Kaennel, M., 1998. Biodiversity: A diversity in definition. *Assess. Biodivers. Improv. For. Plan.* 51, 71–81.
- Kandeler, E., Tschirko, D., Bruce, K.D., Stemmer, M., Hobbs, P.J., Bardgett, R.D., Amelung, W., 2000. Structure and function of the soil microbial community in microhabitats of a heavy metal polluted soil. *Biol. Fert. Soils.* 32, 390–400.
- Kandeler, F., Kampichler, C., Horak, O., 1996. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. *Biol.*

- Fertil. Soils 23, 299–306.
- Kaneda, S., Kaneko, N., 2011. Influence of collembola on nitrogen mineralization varies with soil moisture content. *Soil Sci. Plant Nutr.* 57, 40–49.
- Kanso, A., 2016. Optimisation des cultures d'agromine du Cd et du Zn sur des Technosols construits.
- Kapahi, M., Sachdeva, S., 2017. Mycoremediation potential of *Pleurotus* species for heavy metals: a review. *Bioresour. Bioprocess.* 4, 32.
- Kapoor, R., Bhatnagar, A.K., 2007. Attenuation of cadmium toxicity in mycorrhizal celery (*Apium graveolens* L.). *World J. Microbiol. Biotechnol.* 23, 1083–1089.
- Karandashov, V., Bucher, M., 2005. Symbiotic phosphate transport in arbuscular mycorrhizas. *Trends Plant Sci.* 10, 22–29.
- Kardol, P., Throop, H.L., Adkins, J., Graaff, M.A. de, 2016. A hierarchical framework for studying the role of biodiversity in soil food web processes and ecosystem services. *Soil Biol. Biochem.* 102, 33–36.
- Karimi, B., Maron, P.A., Chemidlin-Prevost Boure, N., Bernard, N., Gilbert, D., Ranjard, L., 2017. Microbial diversity and ecological networks as indicators of environmental quality. *Environ. Chem. Lett.* 15, 1–17.
- Karlen, D.L., Ditzler, C.A., Andrews, S.S., 2003. Soil quality: Why and how? *Geoderma* 114, 145–156.
- Karlen, D.L., Mausbach, M.J., Doran, J.W., Cline, R.G., Harris, R.F., Schuman, G.E., 1997. Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61, 4–10.
- Karliński, L., Rudawska, M., Kieliszewska-Rokicka, B., Leski, T., 2010. Relationship between genotype and soil environment during colonization of poplar roots by mycorrhizal and endophytic fungi. *Mycorrhiza* 20, 315–324.
- Kataki, S., Hazarika, S., Baruah, D.C., 2017. Investigation on by-products of bioenergy systems (anaerobic digestion and gasification) as potential crop nutrient using FTIR, XRD, SEM analysis and phyto-toxicity test. *J. Environ. Manage.* 196, 201–216.
- Kaye, J.P., Hart, S.C., 1997. Competition for nitrogen between plants and soil microorganisms. *Trends Ecol. Evol.* 12, 139–143.
- Keesstra, S.D., Bouma, J., Wallinga, J., Tittonell, P., Smith, P., Cerdà, A., Montanarella, L., Quinton, J.N., Pachepsky, Y., van der Putten, W.H., Bardgett, R.D., Moolenaar, S., Mol, G., Jansen, B., Fresco, L.O., 2016. The significance of soils and soil science towards realization of the United Nations Sustainable Development Goals. *Soil* 2, 111–128.
- Keiser, A.D., Strickland, M.S., Fierer, N., Bradford, M.A., 2011. The effect of resource history on the functioning of soil microbial communities is maintained across time. *Biogeosciences* 8, 1477–1486.
- Kelly, J.J., Häggblom, M., Tate, R.L., 1999. Changes in soil microbial communities over time resulting from one time application of zinc: a laboratory microcosm study. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1455–1465.
- Khan, A.G., Kuek, C., Chaudhry, T.M., Khoo, C.S., Hayes, W.J., 2000. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere* 41, 197–207.
- Khan, S., Afzal, M., Iqbal, S., Khan, Q.M., 2013. Plant-bacteria partnerships for the remediation of hydrocarbon contaminated soils. *Chemosphere* 90, 1317–1332.
- Kibblewhite, M., Ritz, K., Swift, M., 2008. Soil health in agricultural systems. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 363, 685–701.
- Kim, M. S., Min, H. G., Koo, N., Park, J., Lee, S. H., Bak, G. I., Kim, J. G., 2014. The effectiveness of spent coffee grounds and its biochar on the amelioration of heavy metals-contaminated water and soil using chemical and biological assessments. *Journal of environmental management*, 146, 124–130.
- Kim, G., Miller, Patrick A., Nowak, D.J., 2015. Assessing vacant urban land ecosystem services : urban land as green infrastructure in the City of Roanoke, Virginia. *Urban For. Urban Green.* 14, 519–526.
- Kleyer, M., Dray, S., Bello, F., Lepš, J., Pakeman, R.J., Strauss, B., Thuiller, W., Lavorel, S., 2012. Assessing species and community functional responses to environmental gradients: Which multivariate methods? *J. Veg. Sci.* 23, 805–821.
- Klironomos, J.N., Kendrick, W.B., 1996. Palatability of microfungi to soil arthropods in relation to the functioning of arbuscular mycorrhizae. *Biol. Fertil. Soils* 21, 43–52.
- Klironomos, J.N., Kendrick, W.B., 1995. Stimulative effects of arthropods on endomycorrhizas of sugar maple in the presence of decaying litter. *Funct. Ecol.* 528–536.
- Klironomos, J.N., Ursic, M., 1998. Density-dependent grazing on the extraradical hyphal network of the arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus intraradices*, by the collembolan, *Folsomia candida*. *Biol. Fertil. Soils* 26, 250–253.
- Klironomos, J.N., Widden, P., Deslandes, I., 1992. Feeding preferences of the collembolan *Folsomia candida* in relation to microfungi successions on decaying litter. *Soil Biol. Biochem.* 24, 685–692.
- Knox, O.G., Killham, K., Artz, R.R., Mullins, C., Wilson, M., 2004. Effect of nematodes on rhizosphere colonization by seed-applied bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 4666–4671.
- Knox, O.G.G., Killham, K., Mullins, C.E., Wilson, M.J., 2003. Nematode-enhanced microbial colonization of the wheat rhizosphere. *FEMS Microbiol. Lett.* 225, 227–233.
- Koide, R.T., 1991. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. *New Phytol.* 117, 365–386.
- Korobushkin, D.I., Gorbunova, A.Y., Zaitsev, A.S., Gongalsky, K.B., 2017. Trait-specific response of soil macrofauna to forest burning along a macrogeographic gradient. *Appl. Soil Ecol.* 112, 97–100.
- Koske, R.E., Gemma, J.N., 1989. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycol. Res.* 92, 486–488.
- Kozich, J., Westcott, S., Baxter, N., 2013. Development of a Dual-Index Sequencing Strategy and Curation Pipeline for Analyzing Amplicon Sequence Data on the MiSeq Illumina Sequencing Platform. *Appl.* 79, 5112–5120.
- Krause, S., Le Roux, X., Niklaus, P.A., van Bodegom, P.M., Lennon T., J.T., Bertilsson, S., Grossart, H.P., Philippot, L., Bodelier, P.L.E., 2014. Trait-based approaches for understanding microbial biodiversity and ecosystem functioning. *Front. Microbiol.* 5, 1–10.
- Kreuzer, K., Bonkowski, M., Langel, R., Scheu, S., 2004. Decomposer animals (Lumbricidae, Collembola) and organic matter distribution affect the performance of (Poaceae) and (Fabaceae). *Soil Biol. Biochem.* 36, 2005–2011.
- Krishna, A.K., Mohan, K.R., Murthy, N.N., 2010. Monitored natural attenuation as a remediation tool for heavy metal contamination in soils in an abandoned gold mine area. *Curr. Sci.* 99, 628–635.
- Kühn, J., Rippel, R., Schmidhalter, U., 2009. Abiotic soil properties and the occurrence of rhizoctonia crown and root rot in sugar beet. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 172, 661–668.
- Kuperman, R.G., Carreiro, M.M., 1997. Soil heavy metal concentrations, microbial biomass and enzyme activities in a contaminated grassland ecosystem. *Soil Biol. Biochem.* 29, 179–190.
- Kuznetsova, N.A., 2003. New approaches to the assessment of structural organization of communities in springtails (hexapoda: Collembola). *Russ. J. Ecol.* 34, 248–254.

- Lacal, J., Pilar, M., Garcá, R., Sevilla, M.T., 2003. Study of fractionation and potential mobility of metal in sludge from pyrite mining and affected river sediments : changes in mobility over time and use of artificial ageing as a tool in environmental impact assessment 124, 291–305.
- Laliberté, E., Legendre, P., Shipley, B., Laliberté, M., 2014. FD: measuring functional diversity from multiple traits, and other tools for functional ecology. R Packag. version 1.0-12. 91, 299–305.
- Larsen, J., Jakobsen, I., 1996. Interactions between a mycophagous Collembola, dry yeast and the external mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus. *Mycorrhiza* 6, 259–264.
- Larsen, T., Schjøning, P., Axelsen, J., 2004. The impact of soil compaction on euedaphic Collembola. *Appl. Soil Ecol.* 26, 273–281.
- Lauber, C.L., Hamady, M., Knight, R., Fierer, N., 2009. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 5111–5120.
- Lauber, C.L., Strickland, M.S., Bradford, M.A., Fierer, N., 2008. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biol. Biochem.* 40, 2407–2415.
- Lauga-Reyrel, F., Deconchat, M., 1999. Diversity within the Collembola community in fragmented coppice forests in south-western France. *Eur. J. Soil Biol.* 35, 177–187.
- Laurent, F., 2012. Impact de l'oxydation chimique et de la refunctionalisation sur des paramètres physico-chimiques et biologiques de terres contaminées au HAP. <http://www.theses.fr>.
- Laureysens, I., Blust, R., Temmerman, L. De, Lemmens, C., Ceulemans, R., 2004. Clonal variation in heavy metal accumulation and biomass production in a poplar coppice culture : I. Seasonal variation in leaf, wood and bark concentrations. *Environ. Pollut.* 131, 485–494.
- Lavelle, P., 1997. Faunal activities and soil processes: adaptive strategies that determine ecosystem function.
- Lavelle, P., Decaens, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F., Margerie, P., Mora, P., Rossi, J.-P., 2006. Soil invertebrates and ecosystem services. *Eur. J. Soil Biol.* 42, 3–15.
- Lavelle, P., Lattaud, C., Trigo, D., Barois, I., 1995. Mutualism and biodiversity in soils. *Plant Soil* 170, 23–33.
- Lavelle, P., Spain, A.V., 2001. Soil ecology. *Vadose Zone Journal*.
- Lavorel, S., Díaz, S., Cornelissen, J.H.C., Garnier, E., Harrison, S.P., McIntyre, S., Pausas, J.G., Pérez-Harguindeguy, N., Roumet, C., Urcelay, C., 2007. Plant functional types: are we getting any closer to the Holy Grail?, in: *Terrestrial Ecosystems in a Changing World*. Springer, pp. 149–164.
- Lavorel, S., Garnier, E., 2002. Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: Revisiting the Holy Grail. *Funct. Ecol.* 16, 545–556.
- Lavorel, S., Storkey, J., Bardgett, R.D., Bello, F. De, Berg, M.P., Roux, X. Le, Moretti, M., Mulder, C., Pakeman, R.J., Sandra, D., 2013. A novel framework for linking functional diversity of plants with other trophic levels for the quantification of ecosystem services. *J.* 24, 942–948.
- Le Guyader, H., 2008. La biodiversité: un concept flou ou une réalité scientifique? *Le Courr. l'environnement l'INRA* 55, 7–26.
- Lee, Y.J., George, E., 2005. Contribution of mycorrhizal hyphae to the uptake of metal cations by cucumber plants at two levels of phosphorus supply. *Plant Soil* 278, 361–370.
- Lehmann, A., 2014. Technosols and other proposals on urban soils for the WRB (World Reference Base for Soil Resources). *Int. agrophysics* 20, 129.
- Lennon, J.T., Aanderud, Z.T., Lehmkuhl, B.K., Schoolmaster, D.R., 2012. Mapping the niche space of soil microorganisms using taxonomy and traits. *Ecology* 93, 1867–1879.
- Letters, E., 2014. Plant diversity predicts beta but not alpha diversity of soil microbes across grasslands worldwide. *Ecology* 16–19.
- Lévêque, T., Capowiez, Y., Schreck, E., Mombo, S., Mazzia, C., Foucault, Y., Dumat, C., 2015. Effects of historic metal(loid) pollution on earthworm communities. *Sci. Total Environ.* 511, 738–746.
- Levin, M., Kim, K., Morel, J., Burghardt, W., Charzyński, P., Shaw, R., 2017. Soils within Cities. Global approaches to their sustainable management. *Soil Use and Management*, 33(4), 673–673.
- Lewis, S.L., Maslin, M.A., 2015. Defining the Anthropocene. *Nature* 519, 171–180.
- Leys, N.M., Ryngaert, A., Bastiaens, L., Wattiau, P., Top, E.M., Verstraete, W., Springael, D., 2005. Occurrence and community composition of fast-growing *Mycobacterium* in soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons. *FEMS Microbiol. Ecol.* 51, 375–388.
- Leyval, C., Berthelin, J., Florentin, L., Morel, J.L., Schwartz, C., 1999. Le point de vue du pédologue: le sol, une ressource négligée en milieu urbain, in: Barles, S., Bresse, D., Guillerme, A., Leyval, C. (Eds.), *Le Sol Urbain*. Collection Villes, Paris, pp. 129–142.
- Leyval, C., Cébron, A., Béguiristain, T., Faure, P., Ouvrard, S., 2016. Pollution mitigation: natural attenuation of organic pollutants, in: SUITMA, E., M.J.L.K.-H.J.K.J.L.M.W.B.P.C.R.K.S.I.W.G. (Ed.), *Soils within Cities*. Schweizerbart Science Publishers, Stuttgart, Germany.
- Leyval, C., Joner, E.J., 2001. Bioavailability of heavy metals in the mycorrhizosphere, in: Gobran, G.R., Lombi, E., Walter, W. (Eds.), *Trace Elements in the Rhizosphere*. CRC Press, pp. 165–185.
- Leyval, C., Joner, E.J., del Val, C., Haselwandter, K., 2002. Potential of arbuscular mycorrhizal fungi for bioremediation. *Mycorrhizal Technol. Agric.* 175–186.
- Leyval, C., Singh, B.R., Joner, E.J., 1995. Occurrence and infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi in some norwegian soils influenced by heavy metals and soil properties. *Water, Air, Soil Pollut.* 84, 203–216.
- Leyval, C., Turnau, K., Haselwandter, K., 1997. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza* 7, 139–153.
- Li, D., Xu, H., Mei, T., Li, H., 2012. Diversity of endophytic fungi from six dominant plant species in a Pb-Zn mine wasteland in China. *Shengtai Xuebao/ Acta Ecol. Sin.* 32, 2288–2293.
- Li, Y.T., Rouland, C., Benedetti, M., Li, F. bai, Pando, A., Lavelle, P., Dai, J., 2009. Microbial biomass, enzyme and mineralization activity in relation to soil organic C, N and P turnover influenced by acid metal stress. *Soil Biol. Biochem.* 41, 969–977.
- Li, Z., Ma, Z., van der Kuip, T.J., Yuan, Z., Huang, L., 2014. A review of soil heavy metal pollution from mines in China: Pollution and health risk assessment. *Sci. Total Environ.* 468–469, 843–853.
- Lidicker, W.Z.J., 1979. A clarification of interactions in ecological systems. *Bioscience* 29, 475–477.
- Lilleskov, E.A., Bruns, T.D., 2005. Spore dispersal of a resupinate ectomycorrhizal fungus, *Tomentella sublilacina*, via soil food webs. *Mycologia* 97, 762–769.

- Lindo, Z., Whiteley, J., Gonzalez, A., 2012. Traits explain community disassembly and trophic contraction following experimental environmental change. *Glob. Chang. Biol.* 18, 2448–2457.
- Linz, D.M., Hu, A.W., Sitvarin, M.I., Tomoyasu, Y., 2016. Functional value of elytra under various stresses in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Sci. Rep.* 6, 34813.
- Lock, K., Janssens, F., Janssen, C.R., 2003. Effects of metal contamination on the activity and diversity of springtails in an ancient Pb–Zn mining area at Plombières, Belgium. *Eur. J. Soil Biol.* 39, 25–29.
- Long, L.K., Yao, Q., Guo, J., Yang, R.H., Huang, Y.H., Zhu, H.H., 2010. Molecular community analysis of arbuscular mycorrhizal fungi associated with five selected plant species from heavy metal polluted soils. *Eur. J. Soil Biol.* 46, 288–294.
- López-García, Á., Varela-Cervero, S., Vasar, M., Öpik, M., Barea, J.M., Azcón-Aguilar, C., 2017. Plant traits determine the phylogenetic structure of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Mol. Ecol.* 26, 6948–6959.
- Lord, R.A., 2015. Reed canarygrass (*Phalaris arundinacea*) outperforms *Miscanthus* or willow on marginal soils, brownfield and non-agricultural sites for local, sustainable energy crop production. *Biomass and Bioenergy* 78, 110–125.
- Lord, R., Atkinson, J., Lane, A., Scurlock, J., Street, G., 2008. Biomass, Remediation, re-Generation (BioReGen Life Project): Reusing brownfield sites for renewable energy crops. *ASCE Geotech. Spec. Publ.* 177, 527–534.
- Loreau, M., Hector, A., 2001. Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments partitioning selection and biodiversity experiments. *Nature* 412, 72–76.
- Loth, G., Hoefner, W., 1995. Influence of VA-mycorrhiza on heavy metal uptake of oat (*Avena sativa* L.) from soils differing in heavy metal contamination. *Zeitschrift fuer Pflanzenernaehrung und Bodenkd.* 158, 339–345.
- Lucas-Borja, M.E., Hedro, J., Cerdá, A., Candel-Pérez, D., Viñegla, B., 2016. Unravelling the importance of forest age stand and forest structure driving microbiological soil properties, enzymatic activities and soil nutrients content in Mediterranean Spanish black pine (*Pinus nigra* Ar. ssp. *salzmannii*) Forest. *Sci. Total Environ.* 562, 145–154.
- Lucisine, P., 2015. Fonctionnement des sols contaminés. Doctoral dissertation. University of Lorraine.
- 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. *Sci. Total Environ.* 537, 213–224.
- Lueders, T., Wagner, B., Claus, P., Friedrich, M., 2004. Stable isotope probing of rDNA and DNA reveals a dynamic methylotroph community and interactions with fungi and protozoa in oxic rice field soil. *Environ. Microbiol.* 6, 60–72.
- Luo, X. san, Yu, S., Li, X. dong, 2012. The mobility, bioavailability, and human bioaccessibility of trace metals in urban soils of Hong Kong. *Appl. Geochemistry* 27, 995–1004.
- Luptá, P., Miklisová, D., 2012. Diversity and community structure of soil Oribatida (Acari) in an arable field with alluvial soils. *Eur. J. Soil Biol.* 50, 97–105.
- Lussenhop, J., BassiriRad, H., 2005. Collembola effects on plant mass and nitrogen acquisition by ash seedlings (*Fraxinus pennsylvanica*). *Soil Biol. Biochem.* 37, 645–650.
- Ma, Y., Dickinson, N.M., Wong, M.H., 2006. Beneficial effects of earthworms and arbuscular mycorrhizal fungi on establishment of leguminous trees on Pb/Zn mine tailings. *Soil Biol. Biochem.* 38, 1403–1412.
- Macadam, C.R., Bairner, S.Z., 2012. Urban Biodiversity: Successes and challenges: Brownfields: oases of urban biodiversity. *Glas. Nat. Urban Biodivers. Successes Challenges* 25, nd.
- Macfadyen, A., 1961. Improved funnel-type extractors for soil arthropods. *J. Anim. Ecol.* 30, 171–184.
- Magle, S.B., Reyes, P., Zhu, J., Crooks, K.R., 2010. Extirpation, colonization, and habitat dynamics of a keystone species along an urban gradient. *Biol. Conserv.* 143, 2146–2155.
- Magura, T., Hornung, E., Tóthmérész, B., 2008. Abundance patterns of terrestrial isopods along an urbanization gradient. *Community Ecol.* 9, 115–120.
- Mahmood, T., Mehnaz, S., Fleischmann, F., Ali, R., Hashmi, Z.H., Iqbal, Z., 2014. Soil sterilization effects on root growth and formation of rhizosheaths in wheat seedlings. *Pedobiologia (Jena)*. 57, 123–130.
- Makkonen, M., Berg, M.P., van Hal, J.R., Callaghan, T. V., Press, M.C., Aerts, R., 2011. Traits explain the responses of a sub-arctic Collembola community to climate manipulation. *Soil Biol. Biochem.* 43, 377–384.
- Malcicka, M., Berg, M.P., Ellers, J., 2017. Ecomorphological adaptations in Collembola in relation to feeding strategies and microhabitat. *Eur. J. Soil Biol.* 78, 82–91.
- Malik, A.A., Chowdhury, S., Schlager, V., Oliver, A., Puissant, J., Vazquez, P.G.M., Jehmlich, N., von Bergen, M., Griffiths, R.I., Gleixner, G., 2016. Soil fungal: Bacterial ratios are linked to altered carbon cycling. *Front. Microbiol.* 7, 1–11.
- Maliszewska-kordybach, B., Smreczak, B., Klimkowicz-pawlas, A., 2009. Concentrations, sources, and spatial distribution of individual polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soils in the Eastern part of the EU : Poland as a case study. *Sci. Total Environ.* 407, 3746–3753.
- Malloch, D.W., Pirozynski, K.A., Raven, P.H., 1980. Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal symbioses in vascular plants: A review. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 77, 2113–2118.
- Malmström, A., Persson, T., Ahlström, K., Gongalsky, K.B., Bengtsson, J., 2009. Dynamics of soil meso- and macrofauna during a 5-year period after clear-cut burning in a boreal forest. *Appl. Soil Ecol.* 43, 61–74.
- Malmström, A., 2012. Life-history traits predict recovery patterns in Collembola species after fire: a 10 year study. *Applied soil ecology*, 56, 35–42.
- Mandyam, K.G., Jumpponen, A., 2015. Mutualism-parasitism paradigm synthesized from results of root-endophyte models. *Front. Microbiol.* 5, 1–13.
- Manns, H.R., Maxwell, C.D., Emery, R.J.N., 2007. The effect of ground cover or initial organic carbon on soil fungi, aggregation, moisture and organic carbon in one season with oat (*Avena sativa*) plots. *Soil Tillage Res.* 96, 83–94.
- Mao, Y., Sang, S., Liu, S., Jia, J., 2014. Spatial distribution of pH and organic matter in urban soils and its implications on site-specific land uses in Xuzhou, China. *C. R. Biol.* 337, 332–337.
- Maraun, M., Visser, S., Scheu, S., 1998. Oribatid mites enhance the recovery of the microbial community after a strong disturbance. *Appl. Soil Ecol.* 9, 175–181.
- Marcon, E., 2016. Mesures de la Biodiversité. Master Kourou, Fr. 193.
- Martinez-Salgado, M M Gutierrez-Romero, V., Janssens, M., Ortega-Blu, R., 2010. Biological soil quality indicators: a review. *Curr. Res. Technol. Educ. Top. Appl. Microbiol. Microb. Biotechnol.* 319–328.

- Martiny, J.B.H., Jones, S.E., Lennon, J.T., Martiny, A.C., 2015. Microbiomes in light of traits: A phylogenetic perspective. *Science* (80-.). 350, nd.
- Marx, M.-C., Wood, M., Jarvis, S.C., 2001. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils. *Soil Biol. Biochem.* 33, 1633–1640.
- Mathieu, C., Lozet, J., 2011. Dictionnaire encyclopédique de science du sol. Tec & doc.
- Mausbach, M.J., Tugel, A., 1997. Soil quality-A multitude of approaches. *Nat. Resour. Conserv. Serv. nd.*, 12.
- Mayden, R.L., 1997. A hierarchy of species concepts: the denouement in the saga of the species problem. *Species. The units of biodiversity.* 381–423.
- McGill, B.J., Enquist, B.J., Weiher, E., Westoby, M., 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends Ecol. Evol.* 21, 178–185.
- McIntosh, R.P., 1967. An index of diversity and the relation of certain concepts to diversity. *Ecology* 48, 392–404.
- McIntyre, N.E., 2000. Ecology of urban arthropods: A review and a call to action. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 93, 825–835.
- McIntyre, N.E., Rango, J., Fagan, W.F., Faeth, S.H., 2001. Ground arthropod community structure in a heterogeneous urban environment. *Landsc. Urban Plan.* 52, 257–274.
- McLean, M.A., Parkinson, D., 1998. Impacts of the epigeic earthworm *Dendrobaena octaedra* on oribatid mite community diversity and microarthropod abundances in pine forest floor: a mesocosm study. *Appl. Soil Ecol.* 7, 125–136.
- McNamara, N.P., Black, H.I.J., Beresford, N.A., Parekh, N.R., 2003. Effects of acute gamma irradiation on chemical, physical and biological properties of soils. *Appl. Soil Ecol.* 24, 117–132.
- MEA, 2005. Ecosystems and human well-being: Synthesis, Millennium Ecosystem Assessment. Washington, DC.
- Medan, D., Torretta, J.P., Hodara, K., Elba, B., Montaldo, N.H., 2011. Effects of agriculture expansion and intensification on the vertebrate and invertebrate diversity in the Pampas of Argentina. *Biodivers. Conserv.* 20, 3077–3100.
- Meier, S., Borie, F., Bolan, N., Cornejo, P., Meier, S.A., 2012. Phytoremediation of metal-polluted soils by arbuscular mycorrhizal fungi. *Environ. Sci. Technol.* 7, 741–775.
- Menta, C., Conti, F.D., Pinto, S., 2016. Microarthropods biodiversity in natural, seminatural and cultivated soils-QBS-ar approach. *Appl. Soil Ecol.* nd., nd.
- Menzies, N., Moody, P.W., 2005. Competitive sorption reactions between phosphorus and organic matter in soil : A review. *Aust. J. Soil Res.* 43, 189–202.
- Mertens, J., Springael, D., De Troyer, I., Cheyns, K., Wattiau, P., Smolders, E., 2006. Long-term exposure to elevated zinc concentrations induced structural changes and zinc tolerance of the nitrifying community in soil. *Environ. Microbiol.* 8, 2170–2178.
- Migliorini, M., Pigino, G., Bianchi, N., Bernini, F., Leonzio, C., 2004. The effects of heavy metal contamination on the soil arthropod community of a shooting range. *Environ. Pollut.* 129, 331–340.
- Miransari, M., 2010. Contribution of arbuscular mycorrhizal symbiosis to plant growth under different types of soil stress. *Plant Biol. (Stuttg.)* 12, 563–9.
- Moffett, B.F., Nicholson, F.A., Uwakwe, N.C., Chambers, B.J., Harris, J.A., Hill, T.C.J., 2003. Zinc contamination decreases the bacterial diversity of agricultural soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 43, 13–19.
- Moissl-Eichinger, C., Pausan, M., Taffner, J., Berg, G., Bang, C., Schmitz, R.A., 2017. Archaea are interactive components of complex microbiomes. *Trends Microbiol.* 26, 1–16.
- Mol, G., Keesstra, S., 2012. Soil science in a changing world. *Curr. Opin. Environ. Sustain.* 4, 473–477.
- Moore, J.C., Ingham, E.R., Coleman, D.C., 1987. Inter- and intraspecific feeding selectivity of *Folsomia candida* (Willem) (Collembola, Isotomidae) on fungi. *Biol. Fertil. Soils* 5, 6–12.
- Moore, J.C., McCann, K., Setälä, H., De Ruiter, P.C., 2003. Top-down is bottom-up: does predation in the rhizosphere regulate aboveground dynamics? *Ecology* 84, 846–857.
- Moore, J.C., St. John, T. V., Coleman, D.C., 1985. Ingestion of vesicular-arbuscular mycorrhizal hyphae and spores by soil microarthropods. *Ecology* 66, 1979–1981.
- Morel, J.L., Chenu, C., Lorenz, K., 2014. Ecosystem services provided by soils of urban, industrial, traffic, mining, and military areas (SUITMAs). *J. Soils Sediments* 15, 1659–1666.
- Morel, J.L., Schwartz, C., Florentin, L., de Kimpe, C., 2005. Urban soils - Ed: Hillel, Daniel, in: *Encyclopedia of Soils in the Environment*. Elsevier, Oxford, pp. 202–208.
- Moretti, M., Dias, A.T.C., de Bello, F., Altermatt, F., Chown, S.L., Azcrate, F.M., Bell, J.R., Fournier, B., Hedde, M., Hortal, J., Ibanez, S., Ockinger, E., Sousa, J.P., Ellers, J., Berg, M.P., 2017. Handbook of protocols for standardized measurement of terrestrial invertebrate functional traits. *Funct. Ecol.* 31, 558–567.
- Moretti, M., Legg, C., 2009. Combining plant and animal traits to assess community functional responses to disturbance. *Ecography (Cop.)* 32, 299–309.
- Morriën, E., Hannula, S.E., Snoek, L.B., Helmsing, N.R., Zweers, H., Hollander, M. De, Soto, R.L., Bouffaud, M.L., Buée, M., Dimmers, W., Duyts, H., Geisen, S., Giralanda, M., Jørgensen, H.-B., Jensen, J., Plassart, P., Redecker, D., Schmelz, R.M., Schmidt, O., Thomson, B.C., Tisserant, E., Uroz, S., Winding, A., Bailey, M.J., Bonkowski, M., Faber, J.H., Martin, F., Lemanceau, P., Boer, W. De, Veen, J.A. van, Putten, W.H. van der, 2016. Soil networks become more connected and take up more carbon as nature restoration progresses. *Nat. Commun.* 8, 14349.
- Morrison-Whittle, P., Lee, S.A., Goddard, M.R., 2017. Fungal communities are differentially affected by conventional and biodynamic agricultural management approaches in vineyard ecosystems. *Agric. Ecosyst. Environ.* 246, 306–313.
- Mudrak, O., Dolezal, J., Frouz, J., 2016. Initial species composition predicts the progress in the spontaneous succession on post-mining sites. *Ecol. Eng.* 95, 665–670.
- Mukherjee, S., Juottonen, H., Siivonen, P., Quesada, C.L., Tuomi, P., Pulkkinen, P., Yrjälä, K., 2014. Spatial patterns of microbial diversity and activity in an aged creosote-contaminated site. *ISME J.* 8, 2131–2142.
- Mulligan, C.N., Yong, R.N., 2004. Natural attenuation of contaminated soils. *Environ. Int.* 30, 587–601.
- Muñoz-Rojas, M., Erickson, T.E., Martini, D., Dixon, K.W., Merritt, D.J., 2016. Soil physicochemical and microbiological indicators of short, medium and long term post-fire recovery in semi-arid ecosystems. *Ecol. Indic.* 63, 14–22.
- Muratet, A., Machon, N., Jiguet, F., Moret, J., Porcher, E., 2007. The role of urban structures in the distribution of wasteland flora in the Greater Paris area, France. *Ecosystems* 10, 661–671.
- Muscolo, A., Panuccio, M.R., Mallamaci, C., Sidari, M., 2014. Biological indicators to assess short-term soil quality changes in forest

- ecosystems. *Ecol. Indic.* 45, 416–423.
- Mycobank Database, 2017. International Mycological Association. <http://www.mycobank.org/>.
- Naeem, S., Thompson, L.J., Lawler, S.P., Lawton, J.H., Woodfin, R.M., 1994. Declining biodiversity can alter the performance of ecosystems. *Nature* 368, 734–737.
- Nahmani, J., Capowiez, Y., Lavelle, P., 2005. Effects of metal pollution on soil macroinvertebrate burrow systems. *Biol. Fertil. Soils* 42, 31–39.
- Nahmani, J., Lavelle, P., 2002. Effects of heavy metal pollution on soil macrofauna in a grassland of Northern France. *Eur. J. Soil Biol.* 38, 297–300.
- Nahmani, J., Rossi, J.P., 2003. Soil macroinvertebrates as indicators of pollution by heavy metals. *C. R. Biol.* 326, 295–303.
- Nam, J.J., Song, B.H., Eom, K.C., Lee, S.H., Smith, A., 2003. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in agricultural soils in South Korea. *Chemosphere* 50, 1281–1289.
- Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M., Landi, L., Pietramellara, G., Renella, G., 2003. Microbial diversity and soil functions. *Eur. J. Soil Sci.* 54, 655–670.
- Nara, K., 2006. Ectomycorrhizal networks and seedling establishment during early primary succession. *New Phytol.* 169, 169–178.
- Narayanan, P., 2011. Microbial plant pathogens-detection and disease diagnosis, in: *Microbial Plant Pathogens-Detection and Disease Diagnosis*. pp. 1–256.
- Narendrula-Kotha, R., Nkongolo, K.K., 2017. Bacterial and fungal community structure and diversity in a mining region under long-term metal exposure revealed by metagenomics sequencing. *Ecol. Genet. Genomics* 2, 13–24.
- Neher, D.A., 2001. Role of nematodes in soil health and their use as indicators. *J. Nematol.* 33, 161–168.
- Nemati, M.R., Caron, J., Gallichand, J., 2000. Using paper de-inking sludge to maintain soil structural form field measurements. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 275–285.
- NF ISO 11263, 1995. Qualité du sol - Dosage du phosphore - Dosage spectrométrique du phosphore soluble dans une solution d'hydrogénocarbonate de sodium.
- NF X 31-107, 2003. Qualité du sol - Détermination de la distribution granulométrique des particules du sol - Méthode à la pipette.
- NF X 31-130, 1999. Qualité des sols - Méthodes chimiques - Détermination de la capacité d'échange cationique (CEC) et des cations extractibles.
- Ngosong, C., Gabriel, E., Ruess, L., 2014. Collembola grazing on arbuscular mycorrhiza fungi modulates nutrient allocation in plants. *Pedobiologia (Jena)*. 57, 171–179.
- Nguyen, N.H., Song, Z., Bates, S.T., Branco, S., Tedersoo, L., Menke, J., Schilling, J.S., Kennedy, P.G., 2016. FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecol.* 20, 241–248.
- Nichols, K., Wright, S., 2004. Contributions to soil organic matter in agroecosystems. pp. 179–198.
- Niemelä, J., Breuste, J.H., Guntenspergen, G., McIntyre, N.E., Elmqvist, T., James, P., 2011. *Urban Ecology: Patterns, Processes, and Applications*. OUP Oxford.
- Niklasson, M., Petersen, H., Parker, E.D., 2000. Environmental stress and reproductive mode in *Mesaphorura macrochaeta* (Tullbergiinae, Collembola). *Pedobiologia (Jena)*. 44, 476–488.
- Nordin, A., Schmidt, I.K., Shaver, G.R., 2004. Nitrogen uptake by arctic soil microbes and plants in relation to soil nitrogen supply. *Ecology* 85, 955–962.
- Norini, M.-P., 2007. *Ecodynamique des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) et des communautés microbiennes dans des sols à pollution mixte (HAP, métaux) avant et après traitement par biopile et par désorption thermique: influence de la rhizosphère et de la mycorrhizal*. Doctoral dissertation. Nancy 1.
- Norris, M.D., Avis, P.G., Reich, P.B., Hobbie, S.E., 2013. Positive feedbacks between decomposition and soil nitrogen availability along fertility gradients. *Plant Soil* 367, 347–361.
- Nsabimana, D., Haynes, R., Wallis, F., 2004. Size, activity and catabolic diversity of the soil microbial biomass as affected by land use. *Appl. Soil Ecol.* 26, 81–92.
- O'Brien, H.E., Parrent, J.L., Jackson, J.A., Moncalvo, J., Vilgalys, R., 2005. Fungal community analysis by large-scale sequencing of environmental samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 5544–5550.
- Obire, O., Anyanwu, E.C., 2009. Impact of various concentrations of crude oil on fungal populations of soil. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 6, 211–218.
- Oehl, F., Laczko, E., Bogenrieder, A., Stahr, K., Bösch, R., van der Heijden, M., Sieverding, E., 2010. Soil type and land use intensity determine the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Soil Biol. Biochem.* 42, 724–738.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Kindt, R., 2013. Package “vegan.” R Packag. version 2.4-4.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P.R., Hara, R.B.O., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., 2017. Package “vegan” - Community Ecology Package.
- Öpik, M., Moora, M., Liira, J., Zobel, M., 2006. Composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe. *J. Ecol.* 94, 778–790.
- Öpik, M., Moora, M., Zobel, M., Saks, Ü., Wheatley, R., Wright, F., Daniell, T., 2008. High diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a boreal herb-rich coniferous forest. *New Phytol.* 179, 867–876.
- Orgiazzi, A., Bardgett, R.D., Barrios, E., Behan-Pelletier, V., Briones, M.J.I., Chotte, J.-L., De Deyn, G.B., Eggleton, P., Fierer, N., Fraser, T., Hedlund, K., Jeffery, S., Johnson, N.C., Jones, A., Kandeler, E., Kaneko, N., Lavelle, P., Lemanceau, P., M., D.H., 2016. Global soil biodiversity atlas, Global soil biodiversity atlas. European Commission.
- Ortega-Álvarez, R., MacGregor-Fors, I., 2009. Living in the big city: Effects of urban land-use on bird community structure, diversity, and composition. *Landsc. Urban Plan.* 90, 189–195.
- Ortega-Larrocea, M. del P., Xoconostle-Cázares, B., Maldonado-Mendoza, I.E., Carrillo-González, R., Hernández-Hernández, J., Garduño, M.D., López-Meyer, M., Gómez-Flores, L., González-Chávez, M. del C.A., 2010. Plant and fungal biodiversity from metal mine wastes under remediation at Zimapán, Hidalgo, Mexico. *Environ. Pollut.* 158, 1922–1931.
- Ortega-Larrocea, M.P., Siebe, C., Becard, G., Mendez, I., Webster, R., 2001. Impact of a century of wastewater irrigation on the abundance of arbuscular mycorrhizal spores in the soil of the Mezquital Valley of Mexico. *Appl. Soil Ecol.* 16, 149–157.
- Osborn, A.M., Smith, C.J., 2005. *Molecular microbial ecology*. Garland Science.
- Ouvrard, S., Barnier, C., Bauda, P., Beguiristain, T., Biache, C., Bonnard, M., Caupert, C., Cébron, A., Cortet, J., Cotellet, S., Dazy, M., Faure, P., Masfaraud, J.F., Nahmani, J., Palais, F., Poupin, P., Raoult, N., Vasseur, P., Morel, J.L., Leyval, C., 2011. In situ assessment of

- phytotechnologies for multicontaminated soil management. *Int. J. Phytoremediation* 13, 245–263.
- Ouvrard, S., Chenot, E.D., Masfaraud, J.F., Schwartz, C., 2013. Long-term assessment of natural attenuation: Statistical approach on soils with aged PAH contamination. *Biodegradation* 24, 539–548.
- Panagos, P., Hiederer, R., Van Liedekerke, M., Bampa, F., 2013. Contaminated sites in europe: review of the current situation based on data collected through a european network. *J. Environ. Public Health* Article ID, 1–11.
- Panelli, S., Capelli, E., Comandatore, F., Landinez-torres, A., Umberto, M., Tosi, S., Maria, A., 2017. A metagenomic-based , cross-seasonal picture of fungal consortia associated with Italian soils subjected to different agricultural managements. *Fungal Ecol.* 30, 1–9.
- Parisi, V., 2001. The biological soil quality, a method based on microarthropods. *Acta Nat. L'Ateneo Parm.* 37, 97–106.
- Parisi, V., Menta, C., Gardi, C., Jacomini, C., Mozzanica, E., 2005. Microarthropod communities as a tool to assess soil quality and biodiversity: A new approach in Italy. *Agric. Ecosyst. Environ.* 105, 323–333.
- Pascual, J.A., Hernandez, T., Garcia, C., Ayuso, M., 1998. Enzymatic activities in an arid soil amended with urban organic wastes: laboratory experiment. *Bioresour. Technol.* 64, 131–138.
- Pascual, U., Termansen, M., Hedlund, K., Brussaard, L., Faber, J.H., Foudi, S., Lemanceau, P., Jørgensen, S.L., 2015. On the value of soil biodiversity and ecosystem services. *Ecosyst. Serv.* 15, 11–18.
- Paul, E.A., 2014. Soil microbiology, ecology and biochemistry. Academic press.
- Pavan Fernandes, S.A., Bettiol, W., Cerri, C.C., 2005. Effect of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity. *Appl. Soil Ecol.* 30, 65–77.
- Pavao-Zuckerman, M.A., 2008. The nature of urban soils and their role in ecological restoration in cities. *Restor. Ecol.* 16, 642–649.
- Paz-Ferreiro, J., Fu, S., 2016. Biological Indices for Soil Quality Evaluation: Perspectives and Limitations. *L. Degrad. Dev.* 27, 14–25.
- Peng, R.-H., Xiong, A.-S., Xue, Y., Fu, X.-Y., Gao, F., Zhao, W., Tian, Y.-S., Yao, Q.-H., 2008. Microbial biodegradation of polyaromatic hydrocarbons. *FEMS Microbiol. Rev.* 32, 927–955.
- Penton, C. R., Gupta, V. V. S. R., Tiedje, J. M., Neate, S. M., Ophel-Keller, K., Gillings, M., Roget, D. K. 2014. Fungal community structure in disease suppressive soils assessed by 28S LSU gene sequencing. *PLoS One*, 9, e93893.
- Perdomo, G., Evans, A., Maraun, M., Sunnucks, P., Thompson, R., 2012. Mouthpart morphology and trophic position of microarthropods from soils and mosses are strongly correlated. *Soil Biol. Biochem.* 53, 56–63.
- Pérès, G., Vandenbulcke, F., Guernion, M., Hedde, M., Beguiristain, T., Douay, F., Houot, S., Piron, D., Richard, A., Bispo, A., Grand, C., Galsomies, L., Cluzeau, D., 2011. Earthworm indicators as tools for soil monitoring, characterization and risk assessment: An example from the national Bioindicator programme. *Pedobiologia - Int. J. Soil Biol.* 54, S77–S87.
- Pernin, C., Ambrosi, J.-P., Cortet, J., Joffre, R., Petit, J. Le, Tabone, E., Torre, F., Krogh, P.H., 2005. Effects of sewage sludge and copper enrichment on both soil mesofauna community and decomposition of oak leaves (*Quercus suber*) in a mesocosm. *Biol. Fertil. Soils* 43, 39–50.
- Pesakovic, M., Dukic, D., Mandic, L., Miletic, R., 2010. Effect of Npk Fertilizer on the Growth of Saprophytic Fungi in Alluvial Soil 10, 449–454.
- Pey, B., 2010. Contribution de la faune du sol au fonctionnement et à l'évolution des Technosols. Doctoral dissertation. INPL.
- Pey, B., Laporte, M.A., Nahmani, J., Auclerc, A., Capowiez, Y., Caro, G., Cluzeau, D., Cortet, J., Decaens, T., Dubs, F., Joimel, S., Guernion, M., Briard, C., Grumiaux, F., Laporte, B., Pasquet, A., Pelosi, C., Pernin, C., Ponge, J.F., Salmon, S., Santorufo, L., Hedde, M., 2014a. A thesaurus for soil invertebrate trait-based approaches. *PLoS One* 9, e108985.
- Pey, B., Nahmani, J., Auclerc, A., Capowiez, Y., Cluzeau, D., Cortet, J., Decaens, T., Deharveng, L., Dubs, F., Joimel, S., others, 2014b. Current use of and future needs for soil invertebrate functional traits in community ecology. *Basic Appl. Ecol.* 15, 194–206.
- Pillot, L., 2015. Requalification des espaces délaissés: mise en place d'une nouvelle prestation au sein d'un bureau d'études en environnement. *L'Artifex*.
- Pimentel, D., Wilson, C., McCullum, C., Huang, R., Dwen, P., Flack, J., Tran, Q., Saltman, T., Cliff, B., 1997. Economic and Environmental Benefits of Biodiversity. *Bioscience* 47, 747–757.
- Pipe, A.E., Shubert, L.E., 1984. The use of algae as indicators of soil fertility. *Algae as Ecol. Indic. Acad. Press. London* 213–233.
- Pižl, V., Josens, G., 1995. Earthworm communities along a gradient of urbanization. *Environ. Pollut.* 90, 7–14.
- Pižl, V., Schlaghamerský, J., Jan, T., 2009. The effects of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals on terrestrial annelids in urban soils. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 44, 1050–1055.
- Plum, N., 2005. Terrestrial invertebrates in flooded grassland: A literature review. *Wetlands* 25, 721–737.
- Polese, J.-M., 2007. Encyclopédie visuelle des plantes sauvages. *Artémis*.
- Pölme, S., Bahram, M., Yamanaka, T., Nara, K., Dai, Y.C., Grebenc, T., Kraigher, H., Toivonen, M., Wang, P.-H., Matsuda, Y., Naadel, T., Kennedy, P.G., Köljalg, U., Tedersoo, L., 2013. Biogeography of ectomycorrhizal fungi associated with alders (*Alnus* spp.) in relation to biotic and abiotic variables at the global scale. *New Phytol.* 198, 1239–1249.
- Ponge, J., 2012. Perturbations, organismes et écosystèmes.
- Ponge, J.-F., 1993. Biocenoses of Collembola in atlantic temperate grass-woodland ecosystems. *Pedobiologia (Jena)*. 37, 223–244.
- Ponge, J.-F., Pérès, G., Guernion, M., Ruiz-Camacho, N., Cortet, J., Pernin, C., Villenave, C., Chaussod, R., Martin-Laurent, F., Bispo, A., Cluzeau, D., 2013. The impact of agricultural practices on soil biota: A regional study. *Soil Biol. Biochem.* 67, 271–284.
- Ponge, J., Dubs, F., Gillet, S., Sousa, J., Lavelle, P., 2006. Decreased biodiversity in soil springtail communities: the importance of dispersal and land-use history in heterogeneous landscapes. *Soil Biol. Biochem.* 38, 1158–1161.
- Ponge, J.F., 2004. Effets des composés organiques sur la faune du sol. Perturbation des communautés et recolonisation des substrats pollués Effects of carbon compounds on soil fauna. Community disturbance and recolonization of polluted substrates. <hal-00538698>.
- Ponge, J.F., Gillet, S., Dubs, F., Fedoroff, E., Haese, L., Sousa, J.P., Lavelle, P., 2003. Collembolan communities as bioindicators of land use intensification. *Soil Biol. Biochem.* 35, 813–826.
- Poorter, H., Bühler, J., Van Dusschoten, D., Climent, J., Postma, J.A., 2012. Pot size matters: A meta-analysis of the effects of rooting volume on plant growth. *Funct. Plant Biol.* 39, 839–850.
- Porco, D., Potapov, M., Bedos, A., Busmachiu, G., Weiner, W.M., Hamra-Kroua, S., Deharveng, L., 2012. Cryptic diversity in the ubiquitous species *Parisotoma notabilis* (Collembola, Isotomidae): a long-used chimeric species? *PLoS One* 7, e46056.
- Posta, K., Bakonyi, G., 2008. Consideration of AMF-plant-collembola interactions in plant production., *Mycorrhiza*. DPG Selbstverlag.
- Postma-blaauw, M.B., Goede, R.G.M. De, Bloem, J., Faber, J.H., Brussaard, L., 2012. Agricultural intensification and de-intensification

- differentially affect taxonomic diversity of predatory mites, earthworms, enchytraeids, nematodes and bacteria. *Appl. Soil Ecol.* 57, 39–49.
- Prevost-Boure, N.C., Christen, R., Dequiedt, S., Mougél, C., Lelievre, M., Jolivet, C., Shahbazkia, H.R., Guillou, L., Arrouays, D., Ranjard, L., 2011. Validation and application of a PCR primer set to quantify fungal communities in the soil environment by real-time quantitative PCR. *PLoS One* 6, 13.
- Rachwal, M., Magiera, T., Wawer, M., 2015. Coke industry and steel metallurgy as the source of soil contamination by technogenic magnetic particles, heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Chemosphere* 138, 863–873.
- Ramade, F., 2007. Introduction à l'écotoxicologie : Fondements et applications, Lavoisier.
- Rantalainen, M.-L., Fritze, H., Haimi, J., Kiikkilä, O., Pennanen, T., Setälä, H., 2004. Do enchytraeid worms and habitat corridors facilitate the colonisation of habitat patches by soil microbes? *Biol. Fertil. Soils* 39, 200–208.
- Rao, A., Jha, K.N., Misra, S., 2007. Use of aggregates from recycled construction and demolition waste in concrete. *Resour. Conserv. Recycl.* 50, 71–81.
- Rashid, M.I., Mujawar, L.H., Shahzad, T., Almeelbi, T., Ismail, I.M.I., Oves, M., 2016. Bacteria and fungi can contribute to nutrients bioavailability and aggregate formation in degraded soils. *Microbiol. Res.* 183, 26–41.
- Rasmussen, L.D., Sorensen, S.J., 2001. Effects of mercury contamination on the culturable heterotrophic, functional and genetic diversity of the bacterial community in soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 36, 1–9.
- Rawls, W.J., Pachepsky, Y.A., Ritchie, J.C., Sobecki, T.M., Bloodworth, H., 2003. Effect of soil organic carbon on soil water retention. *Geoderma* 116, 61–76.
- Rayner, A.D.M., Todd, N.K., 1980. Population and community structure and dynamics of fungi in decaying wood. *Adv. Bot. Res.* 7, 333–420.
- Razzaq, R., 2017. Phytoremediation: An Environmental Friendly Technique - A Review. *J. Environ. Anal. Chem.* 4, 2–5.
- Reddy, K.R., Chirakkara, R.A., 2013. Green and sustainable remedial strategy for contaminated site: case study. *Geotech. Geol. Eng.* 31, 1653–1661.
- Redecker, D., 2002. Molecular identification and phylogeny of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil* 244, 67–73.
- Redon, P.O., Béguiristain, T., Leyval, C., 2009. Differential effects of AM fungal isolates on *Medicago truncatula* growth and metal uptake in a multimetallic (Cd, Zn, Pb) contaminated agricultural soil. *Mycorrhiza* 19, 187–195.
- Rees, F., Simonnot, M., Morel, J., 2014. Short-term effects of biochar on soil heavy metal mobility are controlled by intra-particle diffusion and soil pH increase. *Eur. J. Soil* 149 – 161.
- Regvar, M., Likar, M., Piltaver, A., Kugonič, N., Smith, J.E., 2010. Fungal community structure under goat willows (*Salix caprea* L.) growing at metal polluted site: The potential of screening in a model phytostabilisation study. *Plant Soil* 330, 345–356.
- Relyea, R.A., 2003. Predator cues and pesticides: A double dose of danger for amphibians. *Ecol. Appl.* 13, 1515–1521.
- Relyea, R.A., Mills, N., 2001. Predator-induced stress makes the pesticide carbaryl more deadly to gray treefrog tadpoles (*Hyla versicolor*). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98, 2491–2496.
- Renella, G., Mench, M., Landi, L., Nannipieri, P., 2005. Microbial activity and hydrolase synthesis in long-term Cd-contaminated soils. *Soil Biol. Biochem.* 37, 133–139.
- Renker, C., Blanke, V., Buscot, F., 2005a. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in grassland spontaneously developed on area polluted by a fertilizer plant. *Environ. Pollut.* 135, 255–266.
- Renker, C., Otto, P., Schneider, K., Zimdars, B., Maraun, M., Buscot, F., 2005b. Oribatid mites as potential vectors for soil microfungi: study of mite-associated fungal species. *Microb. Ecol.* 50, 518–528.
- Rietz, D.N., Haynes, R.J., 2003. Effects of irrigation-induced salinity and sodicity on soil microbial activity. *Soil Biol. Biochem.* 35, 845–854.
- Rizvi, S.H., Gauquelin, T., Gers, C., Guérol, F., Pagnout, C., Baldy, V., 2012. Calcium-magnesium liming of acidified forested catchments: Effects on humus morphology and functioning. *Appl. Soil Ecol.* 62, 81–87.
- Roane, T.M., Pepper, I.L., 1999. Microbial responses to environmentally toxic cadmium. *Microb. Ecol.* 38, 358–364.
- Roberts, J., Mason, N., Smith, M., 2006. Tree roots in the built environment. The Stationery Office.
- Roberts, M.J., 2009. Guide des araignées de France et d'Europe. Delachaux et Niestlé.
- Robinson, B.H., Green, S., Clothier, B.E., Clothier, B.E., 2000. Natural and induced cadmium-accumulation in poplar and willow : Implications for phytoremediation. *Plant Soil* 227, 301–306.
- Robinson, S.L., Lundholm, J.T., 2012. Ecosystem services provided by urban spontaneous vegetation. *Urban Ecosyst.* 15, 545–557.
- Rodrigues, F., Carvalho, M.T., Evangelista, L., De Brito, J., 2013. Physical-chemical and mineralogical characterization of fine aggregates from construction and demolition waste recycling plants. *J. Clean. Prod.* 52, 438–445.
- Rodriguez, R.J., White, J.F., Arnold, A.E., Redman, R.S., 2009. Fungal endophytes: Diversity and functional roles. *New Phytol.* 182, 314–330.
- Roesch, L.F.W., Fulthorpe, R.R., Riva, A., Casella, G., Hadwin, A.K.M., Kent, A.D., Daroub, S.H., Camargo, F.A.O., Farmerie, W.G., Triplett, E.W., 2007. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. *ISME J.* 1, 283–290.
- Rogerson, C.T., Webster, J., 1981. Introduction to Fungi. *Brittonia* 33, 193.
- Rokia, S., Séré, G., Schwartz, C., Deeb, M., Fournier, F., Nehls, T., Damas, O., Vidal-Beaudet, L., 2014. Modelling agronomic properties of Technosols constructed with urban wastes. *Waste Manag.* 34, 2155–2162.
- Römbke, J., Gardi, C., Creamer, R., Miko, L., 2016. Soil biodiversity data: Actual and potential use in European and national legislation. *Appl. Soil Ecol.* 97, 125–133.
- Roosa, S., Wattiez, R., Prygiel, E., Lesven, L., Billon, G., Gillan, D.C., 2014. Bacterial metal resistance genes and metal bioavailability in contaminated sediments. *Environ. Pollut.* 189, 143–151.
- Rosenbaum, M.S., McMillan, A.A., Powell, J.H., Cooper, A.H., Culshaw, M.G., Northmore, K.J., 2003. Classification of artificial (man-made) ground. *Eng. Geol.* 69, 399–409.
- Rosenfield, M.F., Müller, S.C., 2017. Predicting restored communities based on reference ecosystems using a trait-based approach. *For. Ecol. Manage.* 391, 176–183.
- Rossi, J.P., Blanchart, E., 2005. Seasonal and land-use induced variations of soil macrofauna composition in the Western Ghats, southern India. *Soil Biol. Biochem.* 37, 1093–1104.
- Rossiter, D.G., 2007. Classification of urban and industrial soils in the world reference base for soil resources (5 pp). *J. Soils Sediments* 7, 96–100.

- Roudier, P., 2005. Techniques de réhabilitation des sites et sols pollués Fiches de synthèse, Techniques de l'Ingénieur.
- Rousseau, L., Fonte, S.J., Téllez, O., Van Der Hoek, R., Lavelle, P., 2013. Soil macrofauna as indicators of soil quality and land use impacts in smallholder agroecosystems of western Nicaragua. *Ecol. Indic.* 27, 71–82.
- Ruess, L., Zapata, E.J.G., Dighton, J., 2000. Food preferences of a fungal-feeding Aphelenchoides species. *Nematology* 2, 223–230.
- Ruiz-Camacho, N., 2004. Indice Biologique de la Qualité des Sols (IBQS): Bio-indicateur de la qualité des sols basés sur l'étude des peuplements de macro-invertébrés.
- Ruiz, N., Mathieu, J., Célini, L., Rollard, C., Hommay, G., Iorio, E., Lavelle, P., 2011. IBQS: A synthetic index of soil quality based on soil macro-invertebrate communities. *Soil Biol. Biochem.* 43, 2032–2045.
- Ruotsalainen, A.L., Markkola, A., Kozlov, M. V., 2007. Root fungal colonisation in *Deschampsia flexuosa*: Effects of pollution and neighbouring trees. *Environ. Pollut.* 147, 723–728.
- Rusek, J., 1998. Biodiversity of Collembola and their functional role in the ecosystem. *Biodivers. Conserv.* 7, 1207–1219.
- Sabais, A.C.W., Eisenhauer, N., König, S., Renker, C., Buscot, F., Scheu, S., 2012. Soil organisms shape the competition between grassland plant species. *Oecologia* 170, 1021–1032.
- Sabais, A.C.W., Scheu, S., Eisenhauer, N., 2011. Plant species richness drives the density and diversity of Collembola in temperate grassland. *Acta Oecologica* 37, 195–202.
- Sabatini, M.A., Innocenti, G., 2001. Effects of Collembola on plant-pathogenic fungus interactions in simple experimental systems. *Biol. Fertil. soils* 33, 62–66.
- Sabatini, M.A., Innocenti, G., 2000. Functional relationships between Collembola and plant pathogenic fungi of agricultural soils. *Pedobiologia (Jena)*. 44, 467–475.
- Sabrina, D.T., Hanafi, M.M., Azwady Nor, A.A., Mahmud, T.M.M., 2009. Earthworm populations and cast properties in the soils of oil palm plantations. *Malaysian J. Soil Sci.* 13, 29–42.
- Saby, N. P. A., Lemerrier, B., Arrouays, D., Leménager, S., Louis, B. P., Millet, F., Toutain, B., 2014. Le programme Base de Données des Analyses de Terre (BDAT). *Etude et Gestion des Sols*, 21. 141–150.
- Sæbo, A., Persson, T., Hanslin, H.M., Höglind, M., 2017. Intensify production, transform biomass to energy and novel goods and protect soils in Europe., *Facce Surplus*.
- Šalamún, P., Hanzelová, V., Miklisová, D., Šestínová, O., Findoráková, L., Kováčik, P., 2017. The effects of vegetation cover on soil nematode communities in various biotopes disturbed by industrial emissions. *Sci. Total Environ.* 592, 106–114.
- Salmon, S., Ponge, J.F., 2012. Species traits and habitats in springtail communities: A regional scale study. *Pedobiologia (Jena)*. 55, 295–301.
- Salmon, S., Ponge, J.F., Gachet, S., Deharveng, L., Lefebvre, N., Delabrosse, F., 2014. Linking species, traits and habitat characteristics of Collembola at European scale. *Soil Biol. Biochem.* 75, 73–85.
- Salonius, P.O., Robinson, J.B., Chase, F.E., 1967. A comparison of autoclaved and gamma-irradiated soils as media for microbial colonization experiments. *Plant Soil* 27, 239–248.
- Salvo, V.S., Gallizia, I., Moreno, M., Fabiano, M., 2005. Fungal communities in PAH-impacted sediments of Genoa-Voltri harbour (NW Mediterranean, Italy). *Mar. Pollut. Bull.* 50, 553–559.
- Sandaa, R.A., Torsvik, V., Enger, 2001. Influence of long-term heavy-metal contamination on microbial communities in soil. *Soil Biol. Biochem.* 33, 287–295.
- Santamaría, J.M., Moraza, M.L., Elustondo, D., Baquero, E., Jordana, R., Lasheras, E., Bermejo, R., Ariño, A.H., 2012. Diversity of Acari and Collembola along a pollution gradient in soils of a pre-Pyrenean forest ecosystem. *Environ. Eng. Manag. J.* 11, 1159–1169.
- Santorufu, L., Cortet, J., Arena, C., Goudon, R., Rakoto, A., Morel, J.L., Maisto, G., 2014. An assessment of the influence of the urban environment on collembolan communities in soils using taxonomy- and trait-based approaches. *Appl. Soil Ecol.* 78, 48–56.
- Santorufu, L., Cortet, J., Nahmani, J., Pernin, C., Salmon, S., Pernot, A., Morel, J.L., Maisto, G., 2015. Responses of functional and taxonomic collembolan community structure to site management in Mediterranean urban and surrounding areas. *Eur. J. Soil Biol.* 70, 46–57.
- Santorufu, L., Van Gestel, C.A.M., Rocco, A., Maisto, G., 2012. Soil invertebrates as bioindicators of urban soil quality. *Environ. Pollut.* 161, 57–63.
- Sattler, T., Duelli, P., Obrist, M.K., Arlettaz, R., Moretti, M., 2010. Response of arthropod species richness and functional groups to urban habitat structure and management. *Landsc. Ecol.* 25, 941–954.
- Sawulski, P., Clipson, N., Doyle, E., 2014. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on microbial community structure and PAH ring hydroxylating dioxygenase gene abundance in soil. *Biodegradation* 25, 835–847.
- Schaefer, M., Petersen, S., Filser, J., 2005. Effects of *Lumbricus terrestris*, *Allolobophora chlorotica* and *Eisenia fetida* on microbial community dynamics in oil-contaminated soil. *Soil Biol. Biochem.* 37, 2065–2076.
- Schaefer, M., Schauermaun, J., 1990. The soil fauna of beech forests: comparison between a mull and a moder soil. *Pedobiologia (Jena)*. 34, 299–314.
- Scherr, S.J., 1999. Soil degradation: A threat to developing country food security by 2020? *2020 Vis.* 58, 1–51.
- Scheu, S., Ruess, L., Bonkowski, M., 2005a. Interactions between microorganisms and soil micro- and mesofauna. *Springer*, pp. 253–275.
- Scheu, S., Ruess, L., Bonkowski, M., 2005b. Interactions between microorganisms and soil micro- and mesofauna, in: *Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions*. pp. 253–275.
- Scheu, S., Theenhaus, A., Jones, T.H., 1999. Links between the detritivore and the herbivore system: Effects of earthworms and Collembola on plant growth and aphid development. *Oecologia* 119, 541–551.
- Schirmel, J., Thiele, J., Entling, M.H., Buchholz, S., 2016. Trait composition and functional diversity of spiders and carabids in linear landscape elements. *Agric. Ecosyst. Environ.* 235, 318–328.
- Schloss, P.D., Westcott, S.L., Ryabin, T., Hall, J.R., Hartmann, M., Hollister, E.B., Lesniewski, R.A., Oakley, B.B., Parks, D.H., Robinson, C.J., Sahl, J.W., Stres, B., Thallinger, G.G., Van Horn, D.J., Weber, C.F., 2009. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 7537–41.
- Schlöter, M., Dilly, O., Munch, J.C., 2003. Indicators for evaluating soil quality. *Agric. Ecosyst. Environ.* 98, 255–262.
- Schneider, K., Migge, S., Norton, R.A., Scheu, S., Langel, R., Reineking, A., Maraun, M., 2004. Trophic niche differentiation in soil microarthropods (Oribatida, Acari): Evidence from stable isotope ratios ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$). *Soil Biol. Biochem.* 36, 1769–1774.
- Scholtus, N., Echevarria, G., Florentin, L., Bonis, M.L., De Donato, P., Simonnot, M.O., Morel, J.L., 2014. Expected evolution of a

- Technosol derived from excavated Callovo-Oxfordian clay material. *J. Soils Sediments* 15, 332–346.
- Schrader, S., Bo, M., 2006. Soil formation on green roofs and its contribution to urban biodiversity with emphasis on Collembolans. *Pedobiologia (Jena)*. 50, 347–356.
- Schröder, P., Beckers, B., Daniels, S., Gnädinger, F., Maestri, E., Marmiroli, N., Mench, M., Millan, R., Obermeier, M.M., Oustriere, N., Persson, T., Poschenrieder, C., Rineau, F., Rutkowska, B., Schmid, T., Szulc, W., Witters, N., Sæbø, A., 2017. Intensify production, transform biomass to energy and novel goods and protect soils in Europe — A vision how to mobilize marginal lands. *Sci. Total Environ.* 616–617, 1101–1123.
- Schüssler, A., Walker, C., 2010. The Glomeromycota: A species list with new families and new genera. Schüssler A, Walk. C, Gloucester, Publ. Libr. R. Bot. Gard. Edinburgh, Kew, Bot. Staatssammlung Munich, Oregon State Univ. 16, 57.
- Schwartz, M.W., Brigham, C.A., Hoeksema, J.D., Lyons, K.G., Mills, M.H., Van Mantgem, P.J., 2000. Linking biodiversity to ecosystem function: implications for conservation ecology. *Oecologia* 122, 297–305.
- Schwarze, F., Engels, J., C., M., 2000. Fungal strategies of wood decay in trees., Springer, Berlin, Heidelberg.
- Sechi, V., De Goede, R.G.M., Rutgers, M., Brussaard, L., Mulder, C., 2017. A community trait-based approach to ecosystem functioning in soil. *Agric. Ecosyst. Environ.* 239, 265–273.
- Selosse, M.-A., Roy, M., 2009. Green plants that feed on fungi: facts and questions about mixotrophy. *Trends Plant Sci.* 14, 64–70.
- Sénéquier-Crozet, A., Canard, B., 2016. Les champignons endophytes : impact sur les écosystèmes et production de molécules d'intérêt thérapeutique.
- Séré, G., 2007. Fonctionnement et évolution pédogénétiques de Technosols issus d'un procédé de construction de sol. Doctoral dissertation, University of Lorraine.
- Séré, G., Renat, J., Morel, J., 2008. Procédé de valorisation de déchets et sous-produits en construction de sol pour la réhabilitation de sites dégradés. *Déchets Sci. Tech.* 13–17.
- Séré, G., Schwartz, C., Ouvrard, S., Renat, J.-C., Watteau, F., Villemin, G., Morel, J.L., 2010. Early pedogenic evolution of constructed Technosols. *J. Soils Sediments* 10, 1246–1254.
- Séré, G., Schwartz, C., Ouvrard, S., Sauvage, C., Renat, J.C., Morel, J.L., 2008. Soil construction: A step for ecological reclamation of derelict lands. *J. Soils Sediments* 8, 130–136.
- Seres, A., Bakonyi, G., Posta, K., 2007. Collembola (Insecta) disperse the arbuscular mycorrhizal fungi in the soil: Pot experiment. *Polish J. Ecol.* 55, 395–399.
- Seres, A., Bakonyi, G., Posta, K., 2006. Zn uptake by maize under the influence of AM-fungi and Collembola *Folsomia candida*. *Ecol. Res.* 21, 692–697.
- Seres, A., Posta, K., Bakonyi, G., Nagy, P., Kiss, I., Fábíán, M., Répási, V., Nosek, J.N., 2009. Collembola decrease the nitrogen uptake of maize through arbuscular mycorrhiza. *Ekol. Bratislava* 28, 242–247.
- Setälä, H., 1995. Growth of birch and pine seedlings in relation to grazing by soil fauna on ectomycorrhizal fungi. *Ecology* 76, 1844–1851.
- Setälä, H., McLean, M.A., 2004. Decomposition rate of organic substrates in relation to the species diversity of soil saprophytic fungi. *Oecologia* 139, 98–107.
- Shann, J.R., Boyle, J.J., Series, A.C.S.S., 1994. Influence of plant species on in situ rhizosphere degradation, in: *Bioremediation Through Rhizosphere Technology*. American Chemical Society, pp. 70–81.
- Sharifi, M., Ghorbanli, M., Ebrahimzadeh, H., 2007. Improved growth of salinity-stressed soybean after inoculation with salt pre-treated mycorrhizal fungi. *J. Plant Physiol.* 164, 1144–1151.
- Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zhang, F., Huang, Y., 2008. Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza* 18, 287–296.
- Shennan, C., 2008. Biotic interactions, ecological knowledge and agriculture. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 363, 717–739.
- Sheoran, V., Sheoran, A.S., Poonia, P., 2010. Soil reclamation of abandoned mine land by revegetation : A review. *Int. J. Soil, Sediment Water* 3, 1–21.
- Sherlock, E., 2012. Key to the Earthworms of the UK and Ireland, Occasional publication / FSC. Unknown Publisher.
- Siddiky, M.R.K., Kohler, J., Cosme, M., Rillig, M.C., 2012. Soil biota effects on soil structure: Interactions between arbuscular mycorrhizal fungal mycelium and collembola. *Soil Biol. Biochem.* 50, 33–39.
- Siegel, S., Castellan, N.J., 1988. Non-parametric statistics for the behavioral sciences. McGraw-hill.
- Siles, J.A., Margesin, R., 2016. Abundance and diversity of bacterial, archaeal, and fungal communities along an altitudinal gradient in alpine forest soils : What are the driving factors ? *Microb. Ecol.* 207–220.
- Singer, M., Ewing, S., 2000. Handbook of soil science, eds, Handbook of soil science. CRC Boca Raton.
- Singh, B.K., Quince, C., Macdonald, C.A., Khachane, A., Thomas, N., Al-Soud, W.A., Sørensen, S.J., He, Z., White, D., Sinclair, A., Crooks, B., Zhou, J., Campbell, C.D., 2014. Loss of microbial diversity in soils is coincident with reductions in some specialized functions. *Environ. Microbiol.* 16, 2408–2420.
- Sinha, K.K., Choudhary, A.K., Kumari, P., 2016. Chapter 15 - Entomopathogenic Fungi, in: Omkar (Ed.), *Ecofriendly Pest Management for Food Security*. Academic Press, San Diego, pp. 475–505.
- Sinsabaugh, R.L., Reynolds, H., Long, T.M., 2000. Rapid assay for amidohydrolase (urease) activity in environmental samples. *Soil Biol. Biochem.* 32, 2095–2097.
- Sizmur, T., Palumbo-Roe, B., Watts, M.J., Hodson, M.E., 2011. Impact of the earthworm *Lumbricus terrestris* (L.) on As, Cu, Pb and Zn mobility and speciation in contaminated soils. *Environ. Pollut.* 159, 742–748.
- Small, E., Sadler, J.P., Telfer, M., 2006. Do landscape factors affect brownfield carabid assemblages? *Sci. Total Environ.* 360, 205–222.
- Small, E.C., Sadler, J.P., Telfer, M.G., 2002. Carabid beetle assemblages on urban derelict sites in Birmingham, UK. *J. Insect Conserv.* 6, 233–246.
- Smit, C.E., Van Gestel, C.A.M., 1998. Effects of soil type, prepercolation, and ageing on bioaccumulation and toxicity of zinc for the springtail *Folsomia candida*. *Environ. Toxicol. Chem.* 17, 1132–1141.
- Smith, R., Bradshaw, A.D., 1979. The use of metal tolerant plant populations for the reclamation of metalliferous wastes. *J. Appl. Ecol.* 16, 595–612.
- Smith, S.E., Read, D.J., 2008. Mycorrhizal symbiosis. Third Edition. Academic press.
- Socarras, A., 2013. Soil mesofauna: biological indicator of soil quality. *Pastos y Forrajes* 36, 5–13(Es), 14–21(En).
- Sojka, R.E., Upchurch, D.R., 1999. Reservations regarding the soil quality concept. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63, 1039–1054.

- Soliveres, S., van der Plas, F., Manning, P., Prati, D., Gossner, M.M., Renner, S.C., Alt, F., Arndt, H., Baumgartner, V., Binkenstein, J., Birkhofer, K., Blaser, S., Blüthgen, N., Boch, S., Böhm, S., Börschig, C., Buscot, F., Diekötter, T., Heinze, J., Hölzel, N., Jung, K., Klaus, V.H., Kleinebecker, T., Klemmer, S., Krauss, J., Lange, M., Morris, E.K., Müller, J., Oelmann, Y., Overmann, J., Pašalić, E., Rillig, M.C., Schaefer, H.M., Schloter, M., Schmitt, B., Schöning, I., Schrupp, M., Sikorski, J., Socher, S.A., Solly, E.F., Sonnemann, I., Sorkau, E., Steckel, J., Steffan-Dewenter, I., Stempfhuber, B., Tschapka, M., Türke, M., Venter, P.C., Weiner, C.N., Weisser, W.W., Werner, M., Westphal, C., Wilcke, W., Wolters, V., Wubet, T., Wurst, S., Fischer, M., Allan, E., 2016. Biodiversity at multiple trophic levels is needed for ecosystem multifunctionality. *Nature* 536, 456–459.
- Sousa, J.P., Bolger, T., da Gama, M.M., Lukkari, T., Ponge, J.F., Simón, C., Traser, G., Vanbergen, A.J., Brennan, A., Dubs, F., Ivtis, E., Keating, A., Stofer, S., Watt, A.D., 2006. Changes in Collembola richness and diversity along a gradient of land-use intensity: A pan European study. *Pedobiologia (Jena)*. 50, 147–156.
- Spurgeon, D.J., Hopkin, S.P., 1996. The effects of metal contamination on earthworm populations around a smelting works: quantifying species effects. *Appl. Soil Ecol.* 4, 147–160.
- Spurgeon, D.J., Hopkin, S.P., 1999. Seasonal variation biomass and in soils contaminated biodiversity of earthworms with metal emissions from a primary smelting works. *J. Appl. Ecol.* 36, 173–183.
- Stauffer, M., 2014. Impact des taillis à très courte rotation de saules sur les propriétés fonctionnelles des sols et définition d'undicateur de qualité. Doctoral dissertation. University of Lorraine, Vandoeuvre-lès-nancy.
- Stauffer, M., Leyval, C., Brun, J.-J., Lepotier, P., Berthelin, J., 2014. Effect of willow short rotation coppice on soil properties after three years of growth as compared to forest, grassland and arable land uses. *Plant Soil* 377, 423–438.
- Stefanowicz, A.M., Niklińska, M., Laskowski, R., 2008. Metals affect soil bacterial and fungal functional diversity differently. *Environ. Toxicol. Chem.* 27, 591–598.
- Steinaker, D.F., Wilson, S.D., 2008. Scale and density dependent relationships among roots, mycorrhizal fungi and collembola in grassland and forest. *Oikos* 117, 703–710.
- Stone, D., Ritz, K., Griffiths, B.G., Orgiazzi, A., Creamer, R.E., 2016. Selection of biological indicators appropriate for European soil monitoring. *Appl. Soil Ecol.* 97, 12–22.
- Strickland, M.S., Callahan, M.A., Gardiner, E.S., Stanturf, J.A., Leff, J.W., Fierer, N., Bradford, M.A., 2017. Response of soil microbial community composition and function to a bottomland forest restoration intensity gradient. *Appl. Soil Ecol.* 119, 317–326.
- Sutton, N.B., Maphosa, F., Morillo, J.A., Al-Soud, W.A., Langenhoff, A.A.M., Grotenhuis, T., Rijnaarts, H.H.M., Smidt, H., 2013. Impact of long-term diesel contamination on soil microbial community structure. *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 619–630.
- Swift, M., Izac, A., van Noordwijk, M., 2004. Biodiversity and ecosystem services in agricultural landscapes—are we asking the right questions? *Agric. Ecosyst. Environ.* 104, 113–134.
- Swift, M.J., 1982. Basidiomycetes as components of forest ecosystems, in: *Symposium Series-British Mycological Society*.
- Sýkorová, Z., Ineichen, K., Wiemken, A., Redecker, D., 2007. The cultivation bias: Different communities of arbuscular mycorrhizal fungi detected in roots from the field, from bait plants transplanted to the field, and from a greenhouse trap experiment. *Mycorrhiza* 18, 1–14.
- Symstad, A.J., Siemann, E., Haarstad, J., 2000. An experimental test of the effect of plant functional group diversity on arthropod diversity 243–253.
- Szczepaniak, K., Biziuk, M., 2003. Aspects of the biomonitoring studies using mosses and lichens as indicators of metal pollution. *Environ. Res.* 93, 221–230.
- Takahashi, M., Kita, Y., Mizuno, A., Goto-yamamoto, N., 2017. Evaluation of method bias for determining bacterial populations in bacterial community analyses. *J. Biosci. Bioeng.* 124, 476–486.
- Tangahu, B.V., Sheikh Abdullah, S.R., Basri, H., Idris, M., Anuar, N., Mukhlisin, M., 2011. A Review on heavy metals (As, Pb, and Hg) uptake by plants through phytoremediation. *Int. J. Chem. Eng.* 2011, 31.
- Tardy, V., Mathieu, O., Lévêque, J., Terrat, S., Chabbi, A., Lemanceau, P., Ranjard, L., Maron, P.-A., 2014. Stability of soil microbial structure and activity depends on microbial diversity. *Environ. Microbiol. Rep.* 6, 173–183.
- Tedersoo, L., Bahram, M., Polme, S., Koljalg, U., Yorou, N.S., Wijesundera, R., Ruiz, L. V., Vasco-Palacios, A.M., Thu, P.Q., Suija, A., Smith, M.E., Sharp, C., Saluveer, E., Saitta, A., Rosas, M., Riit, T., Ratkowsky, D., Pritsch, K., Poldmaa, K., Piepenbring, M., Phosri, C., Peterson, M., Parts, K., Partel, K., Otsing, E., Nouhra, E., Njouonkou, A.L., Nilsson, R.H., Morgado, L.N., Mayor, J., May, T.W., Majuakim, L., Lodge, D.J., Lee, S.S., Larsson, K.-H., Kohout, P., Hosaka, K., Hiiesalu, I., Henkel, T.W., Harend, H., Guo, L. -d., Greslebin, A., Grelet, G., Geml, J., Gates, G., Dunstan, W., Dunk, C., Drenkhan, R., Dearnaley, J., De Kesel, A., Dang, T., Chen, X., Buegger, F., Brearley, F.Q., Bonito, G., Anslan, S., Abell, S., Abarenkov, K., 2014. Global diversity and geography of soil fungi. *Science (80-.)*. 346, 1256688–1256688.
- Tekaia, F., Latgé, J.P., 2005. *Aspergillus fumigatus*: Saprophyte or pathogen? *Curr. Opin. Microbiol.* 8, 385–392.
- Ter Braak, C. J., 1986. Canonical correspondence analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology*, 67, 1167–1179.
- Tessier, D., Bruand, A., Bissonnais, Y. Le, 1996. Qualité chimique et physique des sols : Variabilité spatiale et évolution. Numéro Spécial Étude Gest. des Sols 3, 229–244.
- Thavamani, P., Malik, S., Beer, M., Megharaj, M., Naidu, R., 2012. Microbial activity and diversity in long-term mixed contaminated soils with respect to polyaromatic hydrocarbons and heavy metals. *J. Environ. Manage.* 99, 10–17.
- Thimm, T., Hoffmann, A., Borkott, H., Munch, J.C., Tebbe, C.C., 1998. The gut of the soil microarthropod *Folsomia candida* (Collembola) is a frequently changeable but selective habitat and a vector for microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 2660–2669.
- Thion, C., Cébron, A., Beguiristain, T., Leyval, C., 2012a. PAH biotransformation and sorption by *Fusarium solani* and *Arthrobacter* oxydans isolated from a polluted soil in axenic cultures and mixed co-cultures. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 68, 28–35.
- Thion, C., Cébron, A., Beguiristain, T., Leyval, C., 2012b. Long-term in situ dynamics of the fungal communities in a multi-contaminated soil are mainly driven by plants. *FEMS Microbiol. Ecol.* 82, 169–181.
- Thomma, B.P.H.J., 2003. *Alternaria* spp.: From general saprophyte to specific parasite. *Mol. Plant Pathol.* 4, 225–236.
- Thomson, B.C., Tisserant, E., Plassart, P., Uroz, S., Griffiths, R.I., Hannula, S.E., Buée, M., Mougél, C., Ranjard, L., Van Veen, J.A., Martin, F., Bailey, M.J., Lemanceau, P., 2015. Soil conditions and land use intensification effects on soil microbial communities across a range of European field sites. *Soil Biol. Biochem.* 88, 403–413.
- Tilman, D., 2001. Functional diversity, in: *Encyclopedia of Biodiversity*. Academic Press, pp. 109–121.
- Tilman, D., Isbell, F., Cowles, J.M., 2014. Biodiversity and ecosystem functioning. *Nature's Serv. Soc. Depend. Nat. Ecosyst.* 93, 112.

- Tilman, D., Reich, P.B., Knops, J.M.H., 2006. Biodiversity and ecosystem stability in a decade-long grassland experiment. *Nature* 441, 629–632.
- Tischer, S., 2008. Lumbricidae communities in soil monitoring sites differently managed and polluted with heavy metals. *Polish J. Ecol.* 56, 635–646.
- Tisdall, J.M., Oades, J.M., 1982. Organic matter and water stable aggregates in soil. *Soil Sci.* 33, 141–163.
- Tisserant, E., Kohler, A., Dozolme-Seddas, P., Balestrini, R., Benabdellah, K., Colard, A., Croll, D., Da Silva, C., Gomez, S.K., Koul, R., 2012. The transcriptome of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* (DAOM 197198) reveals functional tradeoffs in an obligate symbiont. *New Phytol.* 193, 755–769.
- Tiunov, A. V., Scheu, S., 2005. Arbuscular mycorrhiza and Collembola interact in affecting community composition of saprotrophic microfungi. *Oecologia* 142, 636–642.
- Tiwari, S.C., Mishra, R.R., 1993. Fungal abundance and diversity in earthworm casts and in uningested soil. *Biol. Fertil. Soils* 16, 131–134.
- Tobertge, D.R., Curtis, S., 2013. Fungi in bioremediation, *Journal of Chemical Information and Modeling*.
- Toju, H., Kishida, O., Katayama, N., Takagi, K., 2016. Networks depicting the fine-scale co-occurrences of fungi in soil horizons. *PLoS One* 11, 1–18.
- Tonin, C., Vandenkoornhuyse, P., Joner, E.J., Straczek, J., Leyval, C., 2001. Assessment of diversity in the rhizosphere of and effect of these fungi on heavy metal uptake by clover. *Mycorrhiza* 10, 161–168.
- Torsvik, V., Ovreas, L., 2002. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Curr. Opin. Microbiol.* 5, 240–245.
- Torsvik, V., R, S., Goksoyr, J., 1996. Total bacterial diversity in soil and sediment communities - a review. *J. Ind. Microb.* 17, 170–178.
- Tremblay-Boeuf, V., 1995. Effets des contraintes mécaniques sur l'exsudation racinaire du maïs.
- Treseder, K.K., 2013. The extent of mycorrhizal colonization of roots and its influence on plant growth and phosphorus content. *Plant Soil* 371, 1–13.
- Treseder, K.K., Lennon, J.T., 2015. Fungal traits that drive ecosystem dynamics on land. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 79, 243–62.
- Trouvelot, A., 1986. Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. *Mycorrhizae Physiol. Genet.* 217–221.
- Trouvelot, A., Kough, J., Gianinazzi-Pearson, V., 1986. Evaluation of VA infection levels in root systems - Research for estimation methods having a functional significance. in: *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*. INRA-Press, pp. 217–221.
- Turbé, A., Toni, A. De, Benito, P., Lavelle, P., Lavelle, P., Ruiz, N., Putten, W.H. Van der, Labouze, E., Mudgal, S., De Toni, A., Benito, P., Lavelle, P.P., Ruiz, N., Van der Putten, W., Labouze, E., Mudgal, S., 2010. Soil biodiversity: functions, threats and tools for policy makers, Bio Intelligence Service, IRD, and NIOO, Report for European Commission (DG Environment).
- Turnau, K., Ryszka, P., Gianinazzi-Pearson, V., Van Tuinen, D., 2001. Identification of arbuscular mycorrhizal fungi in soils and roots of plants colonizing zinc wastes in southern Poland. *Mycorrhiza* 10, 169–174.
- Uchimiya, M., Lima, I.M., Klasson, K.T., Wartelle, L.H., 2010. Contaminant immobilization and nutrient release by biochar soil amendment: Roles of natural organic matter. *Chemosphere* 80, 935–940.
- Uno, S., Cotton, J., Philpott, S.M., Uno, S., Cotton, J., Philpott, S.M., 2010. Diversity, abundance, and species composition of ants in urban green spaces. *Urban Ecosyst* 13, 425–441.
- Urzelai, A., Hernandez, A.J., Pastor, J., 2000. Biotic indices based on soil nematode communities for assessing soil quality in terrestrial ecosystems. *Sci. Total Environ.* 247, 253–261.
- Uytendaele, M., Breugelmans, P., Janssen, M., Wattiau, P., Joffe, B., Karlson, U., Ortega-Calvo, J.J., Bastiaens, L., Ryngaert, A., Hausner, M., Springael, D., 2006. Distribution of the Mycobacterium community and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) among different size fractions of a long-term PAH-contaminated soil. *Environ. Microbiol.* 8, 836–847.
- Vaccari, F.P., Maienza, A., Miglietta, F., Baronti, S., Di Lonardo, S., Giagnoni, L., Lagomarsino, A., Pozzi, A., Pusceddu, E., Ranieri, R., Valboa, G., Genesio, L., 2015. Biochar stimulates plant growth but not fruit yield of processing tomato in a fertile soil. *Agric. Ecosyst. Environ.* 207, 163–170.
- Vainio, E.J., Hantula, J., 2000. Direct analysis of wood-inhabiting fungi using denaturing gradient gel electrophoresis of amplified ribosomal DNA. *Mycol. Res.* 104, 927–936.
- Vallino, M., Massa, N., Lumini, E., Bianciotto, V., Berta, G., Bonfante, P., 2006. Assessment of arbuscular mycorrhizal fungal diversity in roots of *Solidago gigantea* growing in a polluted soil in Northern Italy. *Environ. Microbiol.* 8, 971–983.
- Van Aarle, I.M., Olsson, P.A., Soderstrom, B., 2001. Microscopic Detection of Phosphatase Activity of Saprophytic and Arbuscular Mycorrhizal Fungi Using a Fluorogenic Substrate. *Mycologia* 93, 17.
- Van Den Brink, P.J., Ter Braak, C.J.F., 1999. Principal response curves: Analysis of time-dependent multivariate responses of biological community to stress. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 138–148.
- Van Der Heijden, M.G., Bardgett, R.D., Van Straalen, N.M., 2008. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecol. Lett.* 11, 296–310.
- van Gestel, C.A.M., Koolhaas, J.E., Hamers, T., van Hoppe, M., van Rooy, M., Korsman, C., Reinecke, S.A., 2009. Effects of metal pollution on earthworm communities in a contaminated floodplain area: Linking biomarker, community and functional responses. *Environ. Pollut.* 157, 895–903.
- Vandenkoornhuyse, P., Baldauf, S.L., Leyval, C., Straczek, J., Young, J.P.W., 2002. Extensive fungal diversity in plant roots. *Science* (80-.). 295, 5562.
- Vandenkoornhuyse, P., Leyval, C., 1998. SSU rDNA sequencing and PCR-fingerprinting reveal genetic variation within *Glomus mosseae*. *Mycologia* 90, 791–797.
- Vandewalle, M., De Bello, F., Berg, M.P., Bolger, T., Dolédec, S., Dubs, F., Feld, C.K., Harrington, R., Harrison, P.A., Lavorel, S., 2010. Functional traits as indicators of biodiversity response to land use changes across ecosystems and organisms. *Biodivers. Conserv.* 19, 2921–2947.
- Vangronsveld, J., Sterckx, J., Van Assche, F., Clijsters, H., 1995. Rehabilitation studies on an old non-ferrous waste dumping ground: effects of revegetation and metal immobilization by beringite. *J. Geochemical Explor.* 52, 221–229.
- Vanhee, B., Salmon, S., Devigne, C., Leprêtre, A., Deharveng, L., Ponge, J.-F., 2017. The “terril” effect: Coal mine spoil tips select for collembolan functional traits in post-mining landscapes of northern France. *Appl. Soil Ecol.* 121, 90–101.
- Varallyay, G., 2000. Soil quality in relation to the concepts of multifunctionality and sustainable development. *Soil Qual. Sustain. Agric. Environ. Secur. Cent. East. Eur.* 69, 17–33.

- Velasquez, E., Lavelle, P., Andrade, M., 2007. GISQ, a multifunctional indicator of soil quality. *Soil Biol. Biochem.* 39, 3066–3080.
- Verberk, W.C.E.P., van Noordwijk, C.G.E., Hildrew, A.G., 2013. Delivering on a promise: integrating species traits to transform descriptive community ecology into a predictive science. *Freshw. Sci.* 32, 531–547.
- Vergnes, A., Blouin, M., Muratet, A., Lerch, T.Z., Mendez-Millan, M., Rouelle-Castrec, M., Dubs, F., 2017. Initial conditions during Technosol implementation shape earthworms and ants diversity. *Landsc. Urban Plan.* 159, 32–41.
- Verhagen, R., Van Diggelen, R., Vermeulen, R., 2008. Community assemblage of the Carabidae fauna in newly created habitats. *Balt. J. Coleopterol.* 8, 135–148.
- Vernay, P., Gauthier-Moussard, C., Hitmi, A., 2007. Interaction of bioaccumulation of heavy metal chromium with water relation, mineral nutrition and photosynthesis in developed leaves of *Lolium perenne* L. *Chemosphere* 68, 1563–1575.
- Vetterlein, D., Hüttel, R.F., 1999. Can applied organic matter fulfil similar functions as soil organic matter? Risk-benefit analysis for organic matter application as a potential strategy for rehabilitation of disturbed ecosystems. *Plant Soil* 213, 1–10.
- Vidal Legaz, B., Maia De Souza, D., Teixeira, R.F.M., Antón, A., Putman, B., Sala, S., 2016. Soil quality, properties, and functions in Life Cycle Assessment: an evaluation of models. *J. Clean. Prod.* 140, 1–14.
- Villéger, S., Mason, N.W.H., Mouillot, D., 2008. New multidimensional functional diversity indices for a multifaceted framework in functional ecology. *Ecology* 89, 2290–2301.
- Vincent, Q., Auclerc, A., Beguiristain, T., Leyval, C., 2018. Assessment of derelict soil quality : Abiotic , biotic and functional approaches. *Sci. Total Environ.* 613–614, 990–1002.
- Vinhal-Freitas, I.C., Corrêa, G.F., Wendling, B., Bobul'ská, L., Ferreira, A.S., 2017. Soil textural class plays a major role in evaluating the effects of land use on soil quality indicators. *Ecol. Indic.* 74, 182–190.
- Violle, C., Navas, M.L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., Garnier, E., 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos* 116, 882–892.
- Visser, S., 1985. Role of the soil invertebrates in determining the composition of soil microbial communities. *Spec. Publ. Ser. Br. Ecol. Soc.*
- Vitousek, P.M., Mooney, H. a, Lubchenco, J., Melillo, J.M., 1997. Human Domination of Earth' s Ecosystems. *Science* (80-.). 277, 494–499.
- Vogel-Mikuš, K., Drobne, D., Regvar, M., 2005. Zn, Cd and Pb accumulation and arbuscular mycorrhizal colonisation of pennycress *Thlaspi praecox* Wulf. (Brassicaceae) from the vicinity of a lead mine and smelter in Slovenia. *Environ. Pollut.* 133, 233–242.
- Wagg, C., Bender, S.F., Widmer, F., Heijden, M.G.A. van der, 2014. Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111, 5266–70.
- Wahsha, M., Nadimi-Goki, M., Fornasier, F., Al-Jawasreh, R., Hussein, E.I., Bini, C., 2017. Microbial enzymes as an early warning management tool for monitoring mining site soils. *Catena* 148, 40–45.
- Wali, M.K., 1999. Ecological succession and the rehabilitation of disturbed terrestrial ecosystems. *Plant Soil* 213, 195–220.
- Walker, C., Mize, C.W., McNabb, H.S., 1982. Populations of endogonaceous fungi at two locations in central Iowa. *Can. J. Bot.* 60, 2518–2529.
- Wallace, K.J., 2007. Classification of ecosystem services: Problems and solutions. *Biol. Conserv.* 139, 235–246.
- Wallander, H., Nylund, J.E., 1992. Effects of excess nitrogen and phosphorus starvation on the extramatrical mycelium of ectomycorrhizas of *Pinus sylvestris* L. *New Phytol.* 120, 495–503.
- Walmsley, A., Cerdà, A., 2017. Soil macrofauna and organic matter in irrigated orchards under Mediterranean climate. *Biol. Agric. Hortic.* 8765, 1–11.
- Walter, C., Bispo, A., Chenu, C., Langlais-Hesse, A., Schwartz, C., 2014. Les services écosystémiques des sols : du concept à sa valorisation. *Cah. Dem.* 51–68.
- Wardle, D.A., 2006. The influence of biotic interactions on soil biodiversity. *Ecol. Lett.* 9, 870–86.
- Wardle, D.A., 2002. *Communities and ecosystems: linking the aboveground and belowground components*. Princeton University Press.
- 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, 1629–1633.
- Warnock, A., Fitter, A., Usher, M., 1982. The influence of a springtail *Folsomia Candida* (Insecta, Collembola) on the mycorrhizal association of leek *Allium porrum* and the vesicular-arbuscular mycorrhizal. *New Phytol.*
- Wehner, J., 2013. Interactions between root-associated fungi and their host plants in a dry grassland.
- Weissenhorn, I., Leyval, C., Belgy, G., Berthelin, J., 1995. Arbuscular mycorrhizal contribution to heavy-metal uptake by maize (*Zea mays* L.) in pot culture with contaminated soil. *Mycorrhiza* 5, 245–251.
- Weissenhorn, I., Leyval, C., Berthelin, J., 1993. Cd-tolerant arbuscular mycorrhizal (AM) fungi from heavy-metal polluted soils. *Plant Soil* 157, 247–256.
- West, N.E., 1990. Structure and function of microphytic soil crusts in wildland ecosystems of arid to semi-arid regions. *Adv. Ecol. Res.* 20, 179–223.
- Whitelaw, M.A., 2000. Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. *Adv. Agron.* 69, 99–151.
- Whitfield, L., Richards, A.J., Rimmer, D.L., 2004. Effects of mycorrhizal colonisation on *Thymus polytrichus* from heavy-metal-contaminated sites in northern England. *Mycorrhiza* 14, 47–54.
- Wickham, H., 2009. *ggplot2 - Elegant graphics for data analysis*, Media. Springer.
- Widenfalk, L.A., Bengtsson, J., Berggren, A., Zwiggelaar, K., Spijkman, E., Huyer-Brugman, F., Berg, M.P., 2015. Spatially structured environmental filtering of collembolan traits in late successional salt marsh vegetation. *Oecologia* 179, 537–549.
- Widenfalk, L.A., Malmström, A., Berg, M.P., Bengtsson, J., 2016. Small-scale Collembola community composition in a pine forest soil – Overdispersion in functional traits indicates the importance of species interactions. *Soil Biol. Biochem.* 103, 52–62.
- Wienhold, B.J., Andrews, S.S., Karlen, D.L., 2004. Soil Quality: A Review of the science and experiences in the USA. *Environ. Geochem. Health* 26, 89–95.
- Wilschut, M., Theuvs, P.A.W., Duchhart, I., 2013. Phytoremediative urban design: Transforming a derelict and polluted harbour area into a green and productive neighbourhood. *Environ. Pollut.* 183, 81–88.
- Wilson, E.O., 2000. A global biodiversity map. *Science* (80-.). 289, 2279.
- Wisn, M.S., Pottier, J., Kissling, W.D., Pellissier, L., Lenoir, J., Damgaard, C.F., Dormann, C.F., Forchhammer, M.C., Grytnes, J.A., Guisan, A., Heikkinen, R.K., Høye, T.T., Kühn, I., Luoto, M., Maiorano, L., Nilsson, M.C., Normand, S., Öckinger, E., Schmidt, N.M., Termansen,

- M., Timmermann, A., Wardle, D.A., Aastrup, P., Svenning, J.C., 2013. The role of biotic interactions in shaping distributions and realised assemblages of species: Implications for species distribution modelling. *Biol. Rev.* 88, 15–30.
- Wong, M., Bradshaw, A., 2002. The restoration and management of derelict land: modern approaches. World Scientific.
- Wood, S.A., Karp, D.S., DeClerck, F., Kremen, C., Naeem, S., Palm, C.A., 2015. Functional traits in agriculture: Agrobiodiversity and ecosystem services. *Trends Ecol. Evol.* 30, 531–539.
- Worrall, J.J., Anagnost, S.E., Zabel, R.A., 1997. Comparison of wood decay among diverse lignicolous fungi. *Mycologia* 199–219.
- Wright, J.P., Gurney, W.S.C., Jones, C.G., 2012. Patch dynamics modified by ecosystem engineers. *Oikos* 105, 336–348.
- Wu, W., Dong, C., Wu, J., Liu, X., Wu, Y., Chen, X., Yu, S., 2017. Ecological effects of soil properties and metal concentrations on the composition and diversity of microbial communities associated with land use patterns in an electronic waste recycling region. *Sci. Total Environ.* 601, 57–65.
- Wubet, T., Christ, S., Schöning, I., Boch, S., Gawlich, M., Schnabel, B., Fischer, M., Buscot, F., 2012. Differences in Soil Fungal Communities between European Beech (*Fagus sylvatica* L.) Dominated Forests Are Related to Soil and Understory Vegetation. *PLoS One* 7.
- Xiao, B., Veste, M., 2017. Moss-dominated biocrusts increase soil microbial abundance and community diversity and improve soil fertility in semi-arid climates on the Loess Plateau of China. *Appl. Soil Ecol.* 117–118, 165–177.
- Yang, S., Wen, X., Zhao, L., Shi, Y., Jin, H., 2014. Crude oil treatment leads to shift of bacterial communities in soils from the deep active layer and upper permafrost along the China-Russia Crude Oil Pipeline route. *PLoS One* 9, e96552.
- Yang, X., Liu, J., McGrouther, K., Huang, H., Lu, K., Guo, X., He, L., Lin, X., Che, L., Ye, Z., Wang, H., 2016. Effect of biochar on the extractability of heavy metals (Cd, Cu, Pb, and Zn) and enzyme activity in soil. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 974–984.
- Yang, Y., Campbell, C.D., Clark, L., Cameron, C.M., Paterson, E., 2006. Microbial indicators of heavy metal contamination in urban and rural soils. *Chemosphere* 63, 1942–1952.
- Yeates, G.W., 2003. Nematodes as soil indicators: functional and biodiversity aspects. *Biol. Fertil. Soils* 37, 199–210.
- Yelle, D.J., Ralph, J., Lu, F., Hammel, K.E., 2008. Evidence for cleavage of lignin by a brown rot basidiomycete. *Environ. Microbiol.* 10, 1844–1849.
- You, Y., Wang, J., Huang, X., Tang, Z., Liu, S., Sun, O.J., 2014. Relating microbial community structure to functioning in forest soil organic carbon transformation and turnover. *Ecol. Evol.* 4, 633–647.
- Yu, X., Cheng, J., 2002. Effect of earthworm on bio-availability of Cu and Cd in soils. *Acta Ecol. Sin.* 23, 922–928.
- Yu, X., Cheng, J., Wong, M.H., 2005. Earthworm–mycorrhiza interaction on Cd uptake and growth of ryegrass. *Soil Biol. Biochem.* 37, 195–201.
- Zarei, M., Hempel, S., Wubet, T., Schäfer, T., Savaghebi, G., Salehi, G., Khayam, M., Buscot, F., 2010. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in relation to soil chemical properties and heavy metal contamination 158, 2757–2765.
- Zhang, G., Guo, X., Zhao, Z., He, Q., Wang, S., Zhu, Y., Yan, Y., Liu, X., Sun, K., Zhao, Y., Qian, T., 2016. Effects of biochars on the availability of heavy metals to ryegrass in an alkaline contaminated soil. *Environ. Pollut.* 218, 513–522.
- Zhang, Y., Li, T., Zhao, Z.-W., 2013. Colonization Characteristics and Composition of Dark Septate Endophytes (DSE) in a Lead and Zinc Slag Heap in Southwest China. *Soil Sediment Contam. An Int. J.* 22, 532–545.
- Zhang, Y., Zhang, Y., Liu, M., Shi, X., Zhao, Z., 2008. Dark septate endophyte (DSE) fungi isolated from metal polluted soils: Their taxonomic position, tolerance, and accumulation of heavy metals in Vitro. *J. Microbiol.* 46, 624–632.
- Zhou, W., Qin, S., Lyu, D., Zhang, P., 2015. Soil sterilisation and plant growth-promoting rhizobacteria promote root respiration and growth of sweet cherry rootstocks. *Arch. Agron. Soil Sci.* 61, 361–370.
- Zhou, X., Zhang, J., Gao, D., Gao, H., Guo, M., Li, L., 2017. Conversion from long-term cultivated wheat field to Jerusalem artichoke plantation changed soil fungal communities 1–10.
- Zhu, L. xia, Xiao, Q., Shen, Y. fang, Li, S. qing, 2017. Microbial functional diversity responses to 2 years since biochar application in silt-loam soils on the Loess Plateau. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 144, 578–584.
- Zhu, X., Chen, B., Zhu, L., Xing, B., 2017. Effects and mechanisms of biochar-microbe interactions in soil improvement and pollution remediation : A review. *Environ. Pollut.* 227, 98–115.
- Zimdars, B., Dunger, W., 1994. Synopses on Palearctic Collembola. Tullbergiinae.–Abh. Ber. Naturkundemus. Görlitz.

Annexes



Annexe 1 : Photographies des parcelles de Jeandelaincourt en cours de construction (été 2013).
Sources : www.lorver.org et thèse d'Ali Kanso (2016).



Annexe 2 : Photographies des parcelles de Biotechnosol (dans la commune de Homécourt) avant et après réhabilitation, c'est-à-dire avant et après construction du Technosol.
Sources : www.valterra.fr.

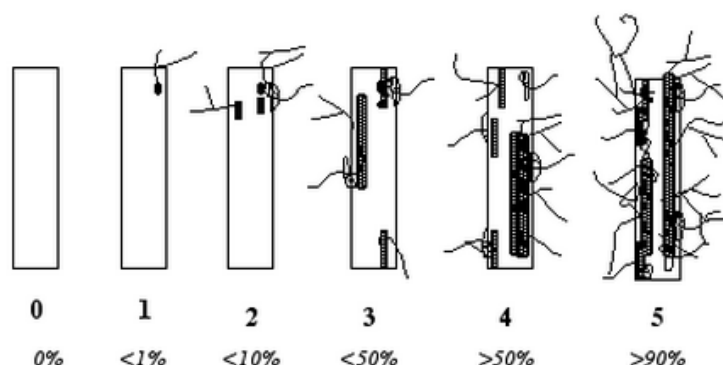
Communautés	Gènes	Etude	Amorces	Séquences (5'-3')	Programmes	Références
Bactérienne	ADNr 16S	qPCR	1401R 968F	CGG TGT GTA CAA GAC CC AAC GCG AAG AAC CTT AC	95°C, 5min (1 cycle) ; 95°C, 20s ; 56°C, 20s ; 72°C, 30s ; 82°C, 5s (39 cycles) ; 72°C, 5min ; 95°C, 30s ; 51°C, 5s ; 95°C, 0,5C	Felske <i>et al.</i> , 1998; Cébron <i>et al.</i> , 2008
		PCR pour la DGGE	R1378 F984-gc	CGG TGT GTA CAA GGC CCG GGA ACG gc.-AAC GCG AAG AAC CTT AC	95°C, 5 min (1 cycle) ; 94°C, 1 min (35 cycles) 63°C, 1 min ; 72°C, 2 min ; 72°C, 10 min, 4°C	(Heuer <i>et al.</i> , 1997)
HAP dégradante à Gram positif (<i>Actinobacteria</i>)	PAH- RHDα GP	qPCR	PAH-RHDα GP 1R PAH-RHDα GP 1F	GGG GAA CAC GGT GCC RTG DAT RAA CGG CGC CGA CAA YTT YGT NGG	95°C, 3min (1 cycle) ; 95°C, 20s ; 54°C, 20s ; 72°C, 20s ; 82°C, 5s (44 cycles) ; 72°C, 5min ; 95°C, 30s ; 54°C, 5s ; 95°C, 0,5C	Cébron <i>et al.</i> , 2008
HAP dégradante à Gram positif (<i>Proteobacteria</i>)	PAH- RHDα GN	qPCR	PAH-RHDα GN 3R PAH-RHDα GN 3F	AGC TGT TGT TCG GGA AGA YWG TGC MGT T GAG ATG CAT ACC ACG TKG GTT GGA	95°C, 3min (1 cycle) ; 95°C, 20s ; 57°C, 20s ; 72°C, 20s ; 82°C, 5s (44 cycles) ; 72°C, 5min ; 95°C, 30s ; 54°C, 5s ; 95°C, 0,5C	Cébron <i>et al.</i> , 2008
Fongique	ADNr 18S	qPCR	FF390R Fung5F	GAG GTC TCG TTC GTT ATC G GGG AAC CAG GAC TTT TAC	95°C, 5min (1 cycle) ; 95°C, 20s ; 50°C, 20s ; 72°C, 30s ; 80°C, 10s (44 cycles) ; 72°C, 5min ; 95°C, 10s ; 65°C, 5s ; 95°C, 0,5C	Lueders <i>et al.</i> , 2004
		PCR pour la DGGE	FF390 FR1-gc	CGA TAA CGA ACG AGA CCT gc.- AIC CAT TCA ATC GGT AIT	95°C, 8min (1 cycle) ; 95°C, 30s ; 50°C, 45s ; 75°C, 2min , 72°C, 10min (30 cycles)	(Vainio and Hantula, 2000)
		PCR pour le séquençage Illumina	FF390R Fung5F	GAG GTC TCG TTC GTT ATC G GGG AAC CAG GAC TTT TAC	95°C, 5min (1 cycle) ; 95°C, 20s ; 50°C, 20s ; 72°C, 30s ; 80°C, 10s (44 cycles) ; 72°C, 5min ; 95°C, 10s ; 65°C, 5s ; 95°C, 0,5C	(Prevost-Boure <i>et al.</i> , 2011)

Annexe 3 : Détails des amorces et des conditions de PCR utilisés dans ce travail de thèse.

Index 1 (i7)	Sequence	Index 2 (i5)	Sequence
N701	TAAGGCGA	N501	TAGATCGC
N702	CGTACTAG	N502	CTCTCTAT
N703	AGGCAGAA	N503	TATCCTCT
N704	TCCTGAGC	N504	AGAGTAGA
N705	GGACTCCT	N505	GTAAGGAG
N706	TAGGCATG	N506	ACTGCATA
N707	CTCTCTAC	N507	AAGGAGTA
N708	CAGAGAGG	N508	CTAAGCCT
N709	GCTACGCT		
N710	CGAGGCTG		
N711	AAGAGGCA		
N712	GTAGAGGA		

Annexe 4 : Détails des index des amorces F et R pour la stratégie d'indexation double du séquençage des différents échantillons par la méthode Illumina.

SCORING MYCORRHIZAL COLONIZATION IN CLASSES FROM 0 TO 5



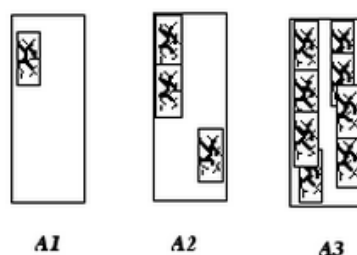
SCORING ARBUSCULE ABUNDANCE

None : A0

Few arbuscules : A1

Frequent : A2

Abundant : A3



Frequency of mycorrhiza in the root system (%)

$$F = (\text{nb of fragments mycorrhized} / \text{total nb of fragments}) \times 100$$

Intensity of the mycorrhizal colonisation in the root system (%)

$$M = (95 \times n_5 + 70 \times n_4 + 30 \times n_3 + 5 \times n_2 + n_1) / (\text{total nb of fragments})$$

where n_5 = number of fragments rated 5; n_4 = number of fragments 4 etc.

Intensity of the mycorrhizal colonisation in the root fragments (%)

$$m = M \times (\text{total nb of fragments}) / (\text{nb of fragments mycorrhized})$$

Arbuscule abundance in mycorrhizal parts of root fragments (%)

$$a = (100 \times mA3 + 50 \times mA2 + 10 \times mA1) / 100$$

where $mA3$, $mA2$, $mA1$ are the % of m , rated A3, A2, A1, respectively, with

$$mA3 = ((95 \times n_5 \times A3 + 70 \times n_4 \times A3 + 30 \times n_3 \times A3 + 5 \times n_2 \times A3 + n_1 \times A3) / \text{total nb of fragments}) \times 100 / m$$

and the same for A2 and A1.

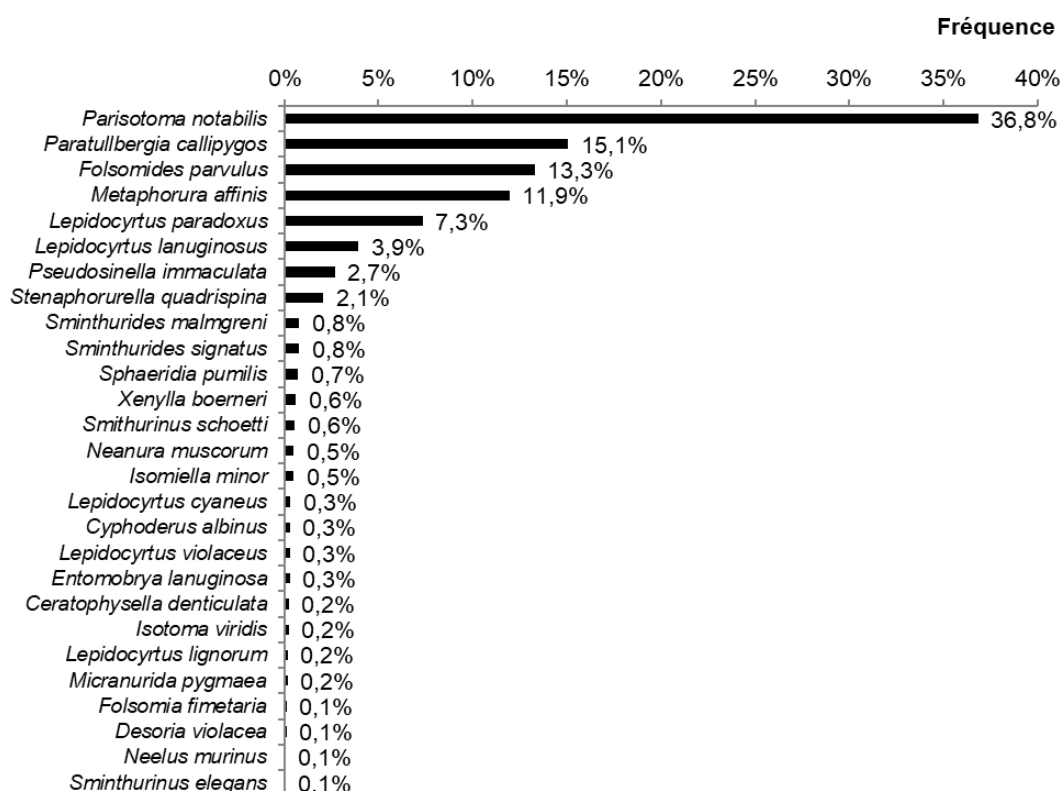
Arbuscule abundance in the root system (%)

$$A = a \times (M / 100)$$

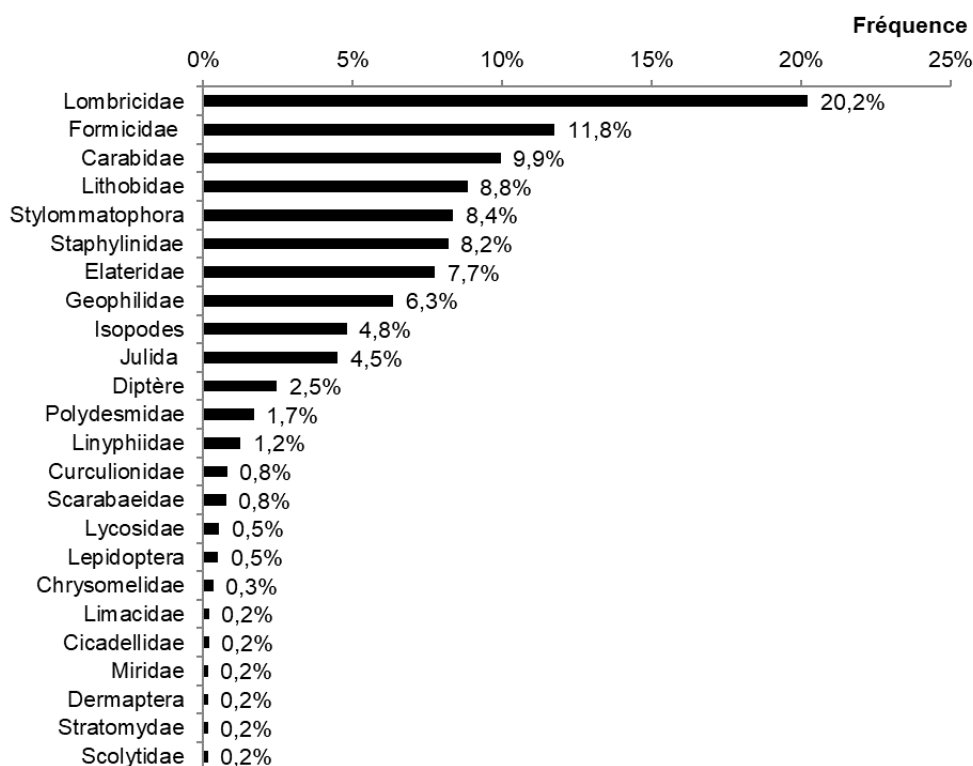
Annexe 5 : Abaque pour l'estimation de la colonisation des racines par des champignons mycorrhiziens à arbuscule selon la méthode de Trouvelot (1986) et calculs associés.

Sites	A					B					C					D					E					F				
Numéro de répliquats	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	
<i>Achillea millefolium</i> (L.)										1											1		1		1					
<i>Artemisia vulgaris</i> (L.)																1														
<i>Arum</i> sp. (L.)																							1							
<i>Asteraceae</i>																														
<i>Campanula rotundifolia</i> (L.)										1																				
<i>Carex</i> sp.(L.)														1				1	1	1										
<i>Cerastium fontanum</i> (Baumg.)											1						1				1									
<i>Chenopodium</i> sp.(L.)													1	1							1						1	1	1	1
<i>Cirsium</i> sp.(Mill.)		1			1	1	1	1	1		1				1							1	1	1		1	1	1	1	1
<i>Daucus carota</i> (L.)											1	1	1								1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Diplotaxis</i> sp.(DC.)													1															1	1	1
<i>Erigeron</i> sp.(L.)																	1													
<i>Euphorbiaceae</i> morphotype 1										1	1	1	1	1	1		1								1					
<i>Euphorbiaceae</i> morphotype 2													1																	
<i>Fragaria vesca</i> (L.)																	1		1		1	1	1	1						
<i>Galium</i> sp.(L.)	1	1			1	1				1																1				
<i>Geraniaceae</i>											1		1	1	1															
<i>Hypericum perforatum</i> (L.)																							1							
<i>Lactuca</i> sp.(L.)																												1		
<i>Malva sylvestris</i> (L.)																												1	1	1
<i>Matricaria</i> sp.(L.)																									1	1				
<i>Medicago sativa</i> (L.)																											1			
<i>Myosotis</i> sp.(L.)											1										1									
<i>Onopordon</i> sp.(L.)											1																	1		
<i>Picris</i> sp.(L.)																											1			
<i>Plantago lanceolata</i> (L.)											1		1		1						1	1	1	1						
<i>Poaceae</i> morphotype 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1			1	1	1		1	1				
<i>Poaceae</i> morphotype 2										1									1	1			1							
<i>Primula</i> sp.(L.)											1	1	1		1	1	1	1	1	1	1				1	1				
<i>Pulmonaria</i> sp.(L.)																							1							
<i>Ranunculus</i> sp.(L.)							1																							
<i>Rubus</i> sp.(L.)					1										1						1		1	1	1					
<i>Sanguisorba minor</i> (Scop.)												1		1		1	1		1	1										
<i>Saxifraga</i> sp.(L.)																					1				1		1	1	1	
<i>Senecio</i> sp. (L.)																											1			
<i>Sonchus</i> sp. (L.)																							1	1		1				
<i>Tanacetum</i> sp. (L.)															1	1					2	1		1						
<i>Thymus</i> sp. (L.)															1	1		1		1								1	1	1
<i>Trifolium repens</i> (L.)											1	1	1			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Tussilago farfara</i> (L.)																											1	1	1	1
<i>Veronica arvensis</i> (L.)							1								1													1	1	1
<i>Vicia sativa</i> (L.)						1					1	1									1		1	1			1	1	1	
<i>Vicia sepium</i> (L.)																							2					1	1	
Non identifié							2	1				2	2			1	1			1		2	4	1	2					

Annexe 6 : Relevé en présence/absence de la flore herbacée sur les six sites étudiés (A=Biotechnosol ; B=Retonfey ; C=Homécourt ; D=Moyeuvre-Petite ; E=Micheville ; F=Jeandelaincourt).



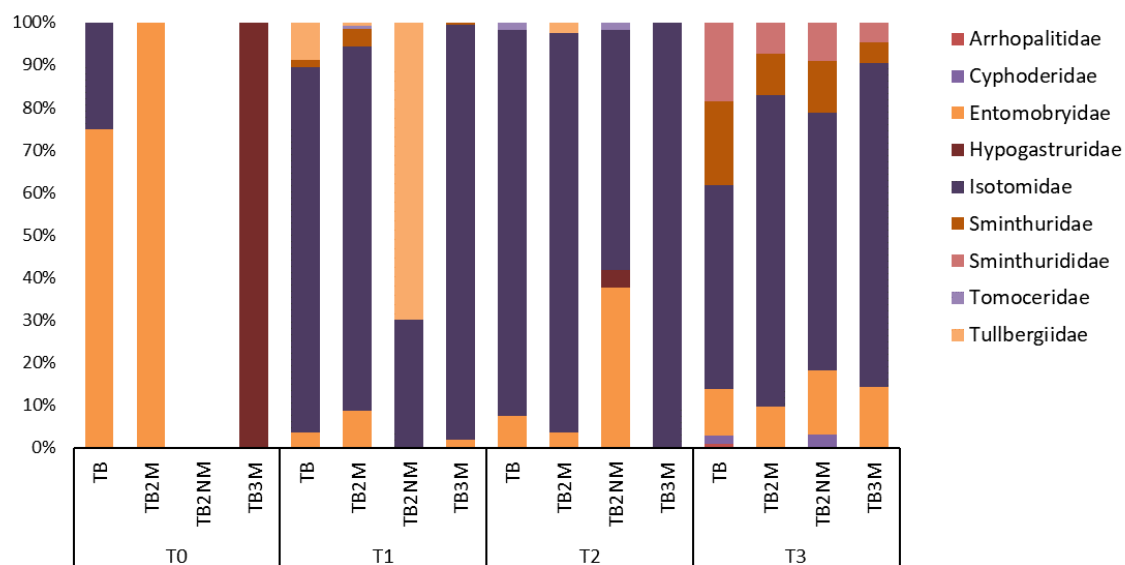
Annexe 7 : Moyenne des fréquences des différentes espèces de collemboles observées dans les six sols délaissés échantillonnés en avril 2015.



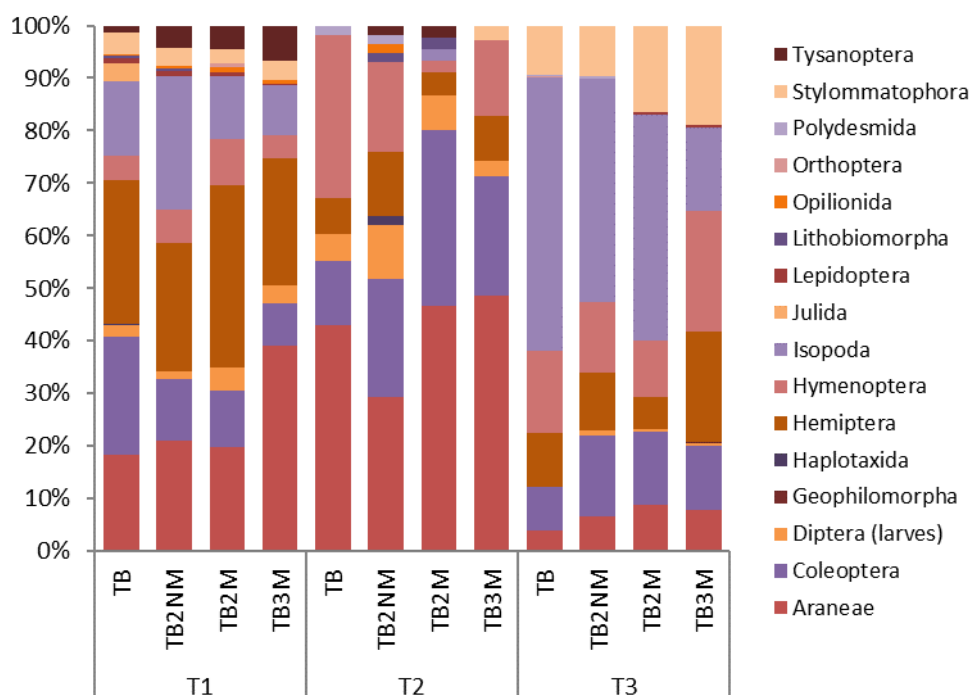
Annexe 8 : Moyenne des fréquences des différents taxa de la macrofaune observés dans les six sols délaissés échantillonnés en avril 2015.

Concentrations		Terre de biopile	Boue industrielle	Biochar
Pseudo-totales				
Al	g.kg ⁻¹	58,6	20,6	NA
Ca	g.kg ⁻¹	65	88,532	48,3
Fe	g.kg ⁻¹	32,6	111,408	1,58
K	g.kg ⁻¹	20,6	2,116	9,88
Mg	g.kg ⁻¹	10,1	8,79	3,5
Mn	g.kg ⁻¹	0,88	1,706	0,25
Na	g.kg ⁻¹	6,05	12,14	0,52
Si	g.kg ⁻¹	253	155,96	16,9
Cd	mg.kg ⁻¹	5,1	114,212	0,2
Cu	mg.kg ⁻¹	58,2	521,7	35
Pb	mg.kg ⁻¹	149	2046,44	3
Zn	mg.kg ⁻¹	426	9590	120
Echangeables (extraction à la cobaltihexamine)				
Ca	mg.kg ⁻¹	2087	289,86	2,7
K	mg.kg ⁻¹	174	50,446	301
Mg	mg.kg ⁻¹	106	13,636	3,04
Na	mg.kg ⁻¹	166	247,68	3,75
Cd	mg.kg ⁻¹	LQ	LQ	LQ
Cu	mg.kg ⁻¹	LQ	LQ	LQ
Pb	mg.kg ⁻¹	LQ	LQ	LQ
Zn	mg.kg ⁻¹	LQ	4,046	LQ
Disponibles (extraction au DTPA)				
Cd	mg.kg ⁻¹	0,26	0,664	0
Cu	mg.kg ⁻¹	3,41	3,428	3,64
Pb	mg.kg ⁻¹	8,7	34,18	0,06
Zn	mg.kg ⁻¹	17,3	9,484	0,47

Annexe 9 : Moyennes des concentrations pseudo-totales, échangeables et disponibles en métaux dans les matériaux parents utilisés pour la construction des parcelles de Jeandelaincourt. LQ=Limite de quantification. *Sources : thèse de Ali Kanso (2016).*



Annexe 10 : Densité moyenne des différentes familles de collemboles échantillonnés dans les quatre modalités (TB, TB2NM, TB2M et TB3M) du Technosol construit de Jeandelaincourt (sol F) à T0 (1 mois), T1 (16 mois), T2 (22 mois) et T3 (28 mois).



Annexe 11 : Densité moyenne des différents taxa de la macrofaune échantillonnés dans les 4 modalités (TB, TB2NM, TB2M et TB3M) du Technosol construit de Jeandelaincourt (sol F) à T1 (16 mois), T2 (22 mois) et T3 (28 mois).

Etude des paramètres abiotiques, biotiques et fonctionnels, et de leurs interactions dans des sols délaissés

Suite à des usages intensifs d'origines industrielles, des surfaces considérables de sols dégradés, peu fertiles, voire contaminés sont délaissés. Dans un contexte de raréfaction des sols et de pressions foncières et économiques grandissantes, la réhabilitation de ces sols fortement anthropisés et délaissés peut-être un enjeu. Toutefois, pour envisager une ré-utilisation de ces sols, il est nécessaire de mieux les caractériser. L'étude de la qualité des sols prend rarement en compte la biodiversité et le fonctionnement biologique. Ainsi, l'objectif de ce travail de thèse était de caractériser des sols délaissés, en prenant en compte leurs paramètres abiotiques, biotiques et fonctionnels. Pour cela, six sols fortement anthropisés délaissés du nord-est de la France, correspondant à différentes activités industrielles, ont été étudiés *in situ* et en laboratoire. Plusieurs groupes biotiques (bactéries, champignons, mésofaune, macrofaune et flore) ont été étudiés afin d'avoir une approche quasi-exhaustive de la biodiversité des sols. Une approche taxonomique et fonctionnelle (basée sur les traits) de la biodiversité a été réalisée pour les champignons, la méso- et la macrofaune. De plus, l'évolution *in situ* au cours du temps des paramètres abiotiques et biotiques a été prise en compte sur un des six sols délaissés étudiés. Enfin, les interactions biotiques entre une espèce de collembole, de champignon mycorrhizien à arbuscules et de plante herbacée ont été étudiées dans deux sols délaissés, en laboratoire. Nous avons montré que les sols délaissés étaient caractérisés par une biodiversité significative, comparable selon les cas, à celles d'autres types de sols, comme les sols forestiers, de prairies ou agricoles. Toutefois, des différences de densité, de richesse et de structures taxonomiques et fonctionnelles entre les sols délaissés existent et dépendent du groupe biotique étudié. Ces différences sont notamment liées aux propriétés physico-chimiques contrastées de ces sols. Ainsi, un sol construit, amendé en compost, était l'écosystème le moins perturbé des sols étudiés, contrairement à un autre sol construit et contaminé en métaux lourds. Nous avons montré que les paramètres physico-chimiques, et surtout biologiques, évoluaient rapidement au cours du temps (environ un an) dans le sol construit contaminé en métaux lourds. Enfin, nous avons mis en évidence, dans les deux sols étudiés en laboratoire, des modifications des interactions biotiques sous l'influence de nombreux paramètres comme le volume de sol, la durée de l'interaction, la présence d'une microflore indigène *etc.* Finalement, nous avons montré que ces sols pouvaient être le support de services écosystémiques tels que l'habitat pour la biodiversité et qu'ils pouvaient être fonctionnels, permettant ainsi de considérer leur potentielle valorisation.

MOTS CLES : Sols anthropisés, Biodiversité, Qualité du sol, Micro-organismes, Faune, Traits

Study of abiotic, biotic and functional parameters, and their interactions in derelict soils

Due to industrial activities intensification, large surfaces of degraded soils, with low fertility and sometimes contamination, are derelict. In the context of land depletion and economic pressure, the rehabilitation of these derelict anthropogenic soils could be a key issue. However, these derelict soils needs to be better characterized before to consider their potential use. Soil quality studies rarely take into account the biodiversity and the biological functioning. Thus, the aim of this PhD work was to characterize derelict soils by considering their abiotic, biotic and functional parameters. To this end, six derelict strongly anthropogenic soils from north-eastern France, resulting from different industrial activities, were studied *in situ* and in laboratory. Several biotic components (bacteria, fungi, mesofauna, macrofauna and flora) were studied to have an almost complete approach of the soil biodiversity. Taxonomical and functional (trait-based approach) study of biodiversity was performed for fungi, meso- and macrofauna. Moreover, the *in situ* evolution over time of abiotic and biotic parameters was taken into account in one of the six studied derelict soils. Lastly, biotic interactions between a species of Collembola, of arbuscular mycorrhizal fungi and of herbaceous plant were studied in two derelict soils, in a growth chamber. We showed that derelict soils were characterized by a significant biodiversity, comparable case to case with other kinds of soils like forest, grassland or crop. Nevertheless, differences in terms of density, richness and taxonomical and functional structure community were observed between soils and depend on considered biotic group. These differences were notably linked with contrasting physico-chemical parameters between soils. Thus, a compost-amended constructed soil was the less disturbed among the six studied soils, in contrast with a heavy metal-contaminated constructed soil. We showed that abiotic parameters, notably biotic parameters, evolved quickly (within one year) in the metal-contaminated constructed soil. In the two derelict soils where interactions between Collembola and mycorrhizal fungi were studied, biotic interactions were affected by several parameters like soil volume, time of interaction, indigenous microflora presence *etc.* Finally, we have shown that these derelict soils support ecosystems services such as biodiversity reserve and could be functional, allowing potential re-use.

KEYWORDS : Anthropogenic soils, Biodiversity, Soil quality, Micro-organisms, Fauna, Traits