

Tolérance et accumulation des éléments traces métalliques chez *Miscanthus x giganteus* : phytoremédiation et valorisation de la biomasse

Martinussen Madeleine

Mémoire présenté en vue de l'obtention du
diplôme de Master en Biologie des Organismes
et Ecologie

Promoteur : Stanley Lutts (UCLouvain, GRPV)

Année académique 2023-2024

Remerciements

Je remercie toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.

Tout d'abord mon promoteur, le professeur Stanley Lutts pour le temps qu'il m'a accordé et son aide précieuse à la réalisation de ce mémoire. Je le remercie de m'avoir encadrée et guidée tout au long de l'année.

Un grand merci à Monsieur Olivier Decocq de la société Duferco d'avoir mis son terrain à ma disposition. Ainsi qu'à Monsieur Renaud Fabri de l'ASBL PROMICS pour m'avoir donné accès à la plantation de Miscanthus.

Je tiens à remercier également toute l'équipe du GRPV pour leur accueil chaleureux et leurs nombreux conseils qui ont encouragé mes réflexions et mon analyse critique.

Merci particulièrement à Brigitte Vanpee pour m'avoir conduite, accompagnée et aidée à de nombreuses reprises sur le terrain. Merci à Paul Dekaezemaeker pour son aide lors des dosages biochimiques et minéralogiques.

Un grand merci également à Nolan, Rania, Andrea et tous les autres membres du laboratoire pour leur aide et leurs réponses à mes nombreuses questions.

Merci aussi à l'équipe de MOCA, Hélène Dailly, Laurence Monin, Karine Henin et Claudine Givron pour leur disponibilité et leur aide sur de nombreuses analyses.

Je remets mes remerciements également à Thomas Dagbert pour ses explications sur les appareils physiologiques.

Je remercie aussi la professeure Muriel Quinet, Madame Delphine Vromman et Nolan Renier pour le temps qu'ils accorderont à la lecture de ce mémoire.

Je souhaite remercier tout particulièrement mes parents pour leurs nombreuses relectures mais également leur encouragement durant toutes mes années d'étude.

Enfin, merci à mes frères et sœur, mes ami.e.s et mes chats pour leur soutien indéfectible.

Résumé

A la fin du XIX^{ème} siècle, le secteur industriel s'est développé sans préoccupation des rejets d'éléments toxiques dans les sols. En effet, le sol a été longtemps considéré comme une ressource renouvelable, voire même inépuisable, capable de recevoir sans conséquence les rejets de nos activités. On sait maintenant que les sols sont caractérisés par un équilibre fragile et sont vulnérables. Parmi les polluants générés par les activités industrielles, on retrouve les éléments traces métalliques (ETM) dans les sols qui peuvent contaminer tous les niveaux de la chaîne alimentaire et augmenter les risques pour la santé humaine et le maintien des écosystèmes. De nombreuses techniques de dépollution ont depuis été développées comprenant des traitements physiques, chimiques et biologiques. Cependant, ces dernières souffrent de nombreuses limitations. Ces dernières années, une méthode de gestion plus douce et plus raisonnée de l'environnement a vu le jour : la phytoremédiation. Celle-ci consiste en l'utilisation de plantes pour extraire, dégrader ou immobiliser un contaminant. Bien qu'elles soient plus lentes, ces méthodes biologiques s'avèrent moins coûteuses et plus respectueuses de l'environnement que les autres procédés conventionnels. Le *Miscanthus x giganteus*, s'avère être une culture prometteuse pour allier restauration écologique des terres contaminées et production de biomasse énergétique. Dans le contexte des récentes crises énergétiques, la recherche de solutions énergétiques plus durables s'intensifie et le *Miscanthus* pourrait être une bonne alternative dans ce domaine.

Ce mémoire s'inscrit dans cette dynamique en cherchant à comprendre comment les ETM influencent la croissance et la physiologie du *Miscanthus x giganteus* lorsqu'il est cultivé sur des sols contaminés. Il vise aussi à vérifier dans quelle mesure les métaux lourds sont absorbés et accumulés dans les parties aériennes de la plante, en évaluant les risques de contamination de la biomasse dans le cadre d'une utilisation énergétique potentielle.

Les résultats obtenus montrent que la présence d'ETM dans le sol affecte de manière significative le développement du *Miscanthus*, en perturbant principalement l'absorption des nutriments essentiels. Cela entraîne des carences provoquant des phénomènes de chloroses et une activation du système antioxydant pour lutter contre le stress que ces plantes subissent, ce qui se traduit également par des altérations morphologiques. La translocation des métaux vers les tiges et les feuilles reste limitée, ce qui fait du *Miscanthus* une culture prometteuse pour la revalorisation des terrains contaminés. La culture de *Miscanthus* sur des terrains impropres à toute autre forme d'agriculture, permettrait ainsi de revaloriser ces sols tout en les assainissant grâce à un processus de phytostabilisation. Les métaux lourds sont immobilisés dans le sol, réduisant ainsi leur mobilité et leur impact environnemental. Cette double fonctionnalité du *Miscanthus* offre une solution viable pour la gestion durable des sols contaminés tout en générant de la biomasse exploitable.

Mots clés : *Miscanthus x giganteus*, phytoremédiation, éléments traces métalliques, biomasse, énergie, contamination

Abstract

At the end of the 19th century, the industrial sector developed without concern for the release of toxic elements into the soil. Indeed, soil was long considered a renewable, even inexhaustible resource, capable of receiving the waste from our activities without consequence. We now know that soils are characterized by a fragile balance and are vulnerable. Among the pollutants generated by industrial activities, trace metal elements (ETM) in soils can contaminate all levels of the food chain, increasing risks to human health and ecosystem stability. Numerous remediation techniques have since been developed, including physical, chemical, and biological treatments. However, these techniques suffer from numerous limitations. In recent years, a more gentle and considered method of environmental management has emerged: phytoremediation. This involves the use of plants to extract, degrade, or immobilize a contaminant. Although slower, these biological methods are less costly and more environmentally friendly than other conventional processes. *Miscanthus x giganteus* has emerged as a promising crop for combining ecological restoration of contaminated lands with the production of biomass energy. In the context of recent energy crises, the search for more sustainable energy solutions is intensifying, and *Miscanthus* could be a good alternative in this field.

This thesis is part of this dynamic, aiming to understand how ETMs influence the growth and physiology of *Miscanthus x giganteus* when cultivated on contaminated soils. It also seeks to assess the extent to which heavy metals are absorbed and accumulated in the aerial parts of the plant, evaluating the risks of biomass contamination in the context of potential energy use.

The results show that the presence of ETMs in the soil significantly affects the development of *Miscanthus*, primarily disrupting the absorption of essential nutrients. This leads to deficiencies, causing chlorosis and the activation of the antioxidant system to combat the stress these plants undergo, which is also reflected in morphological alterations. The translocation of metals to the stems and leaves remains limited, making *Miscanthus* a promising crop for the reclamation of contaminated lands. Cultivating *Miscanthus* on lands unsuitable for other forms of agriculture would thus allow these soils to be reclaimed while also being remediated through a phytostabilization process. Heavy metals are immobilized in the soil, reducing their mobility and environmental impact. This dual functionality of *Miscanthus* offers a viable solution for the sustainable management of contaminated soils while generating usable biomass.

Keywords : *Miscanthus x giganteus*, phytoremediation, trace metal elements, biomass, energy, contamination

Table des matières

Remerciements.....	I
Résumé.....	II
Abstract	III
Table des matières	IV
Liste des abréviations	VII
Liste des figures.....	IX
Liste des tableaux.....	XI
Synthèse bibliographique	1
I. Introduction	1
II. Le sol	1
II.1. Caractéristiques des sols.....	1
II.2. Contamination des sols par les métaux lourds.....	2
II.3. Risques de la pollution des métaux lourds	2
II.4. Situation en Wallonie	3
III. Les métaux lourds	3
III.1. Définition.....	3
III.2. Rôles des ETM dans les plantes.....	4
III.3. Mobilité et biodisponibilité des ETM	4
III.3.1. Définitions	4
III.3.2. Facteurs influençant la biodisponibilité des métaux.....	5
III.4. Contamination des plantes aux ETM	7
III.5. Impact des métaux lourds sur la physiologie de la plante	8
III.5.1. Impact sur la croissance	8
III.5.2. Impact des métaux lourds sur le statut hydrique de la plante	8
III.5.3. Impact des métaux sur la nutrition minérale	9
III.5.4. Impact des métaux sur les activités photosynthétiques.....	9
III.5.5. Le stress oxydatif.....	10
III.5.6. Impact des métaux lourds sur le statut hormonal de la plante	11
IV. La phytoremédiation	11
IV.1. Les techniques de phytoremédiation	11
IV.2. Techniques de phytoremédiation appliquées aux ETM.....	12
IV.3. Mise en place de la phytoremédiation	14
IV.4. Avantages et inconvénients de la phytoremédiation.....	15

V.	Le Miscanthus.....	15
V.1.	Description et taxonomie	15
V.2.	Le Miscanthus en phytoremédiation.....	16
V.3.	Ecologie	16
V.4.	Potentiel et avantages du Miscanthus.....	17
V.5.	Points négatifs du Miscanthus.....	18
V.6.	Valorisation de la biomasse du Miscanthus	18
	Objectifs du mémoire	19
	Matériel et méthodes	20
I.	Site d'expérimentation et implantation du Miscanthus	20
II.	Analyse du sol.....	22
II.1.	pH.....	22
II.2.	Humidité relative	22
II.3.	Rapport Carbone sur Azote	23
II.4.	Capacité d'échange cationique (CEC)	23
II.5.	Biodisponibilité	24
II.6.	Extraction et dosage des éléments traces métalliques (ETM)	24
III.	Analyse des Miscanthus.....	24
III.1.	Morpho-physiologique	24
III.1.1.	Croissance des Miscanthus	25
III.1.2.	Teneur en chlorophylle et température foliaire	25
III.1.3.	Photosynthèse nette, transpiration instantanée, conductance stomatique et concentration en CO ₂ intercellulaire.....	25
III.1.4.	Conductance stomatique	26
III.2.	Analyse biochimique	26
III.2.1.	Dosage de la malondialdéhyde (MDA).....	26
III.2.2.	Dosage des pigments, polyphénols, flavonoïdes et glucides.....	27
III.2.3.	Dosage des thiols totaux, du glutathion et des phytochélatines	29
III.3.	Dosage des éléments majeurs et traces métalliques (ETM) dans la plante	30
IV.	Analyse statistique	30
	Résultats	31
I.	Résultats des analyses de sol	31
I.1.	pH.....	31
I.2.	Humidité relative.....	31
I.3.	Rapport Carbone sur Azote.....	32

I.4. Bases échangeables et capacité d'échange cationique (CEC).....	32
I.5. Dosage des éléments majeurs et des éléments traces métalliques (ETM).....	34
II. Résultats des analyses sur les Miscanthus	38
II.1. Caractéristiques morphologiques	38
II.2. Activité photosynthétique et pigments.....	41
II.2.1. Efficience de la photosynthèse	41
II.2.2. Pigments photosynthétiques	43
II.2.3. Température foliaire	46
II.3. État nutritionnel	46
II.4. État de stress et stratégies de protection.....	51
II.5. Contamination aux ETM	54
Discussion	58
I. Caractéristiques physico-chimiques et contamination multiple du sol du site expérimental	58
II. Impacts des propriétés du substrat sur la croissance et le développement des plantes.....	59
III. Impacts des propriétés du substrat sur la photosynthèse	61
IV. Accumulations des métaux lourds dans la biomasse de Miscanthus	63
Conclusion et perspectives	67
Bibliographies	68
Annexes.....	78

Liste des abréviations

A	Photosynthèse nette
ABA	Acide abscissique
Abs	Absorbance
AlCl ₃	Chlorure d'aluminium
ANOVA	Analyse de la Variance
ASBL	Association sans but lucratif
Ba	Baryum
BCF	Bioconcentration Factor (Facteur de bioaccumulation)
BDES	Banque de Données de l'État des Sols
BEP	Bureau Économique de la Province
Cd	Cadmium
Cc	Concentration critique
CEC	Capacité d'échange cationique
Chla	Chlorophylle a
Chlb	Chlorophylle b
C_i	Concentration en CO ₂ intracellulaire
Co	Cobalt
Cr	Chrome
Cu	Cuivre
DTPA	Acide Diéthylènetriaminepentaacétique
DTNB	Réactif d'Ellman (5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid))
DTT	Dithiothréitol
E	Transpiration instantanée
ETM	Éléments traces métalliques
Fe	Fer
g_s	Conductance stomatique
GSH	Glutathion réduit
GSHt	Glutathion total
GSH/GSSG	Rapport Glutathion réduit / Glutathion oxydé
GSSG	Glutathion oxydé
HCl	Acide chlorhydrique
Hg	Mercure
HNO ₃	Acide nitrique
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography (Chromatographie liquide haute performance)
ICP-AES	Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy (Spectrométrie d'Émission Plasma à Couplage Inductif)
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy (Spectrométrie d'Émission Optique Plasma à Couplage Inductif)
IRGA	Infra Red Gas Analyzer (Analyseur de gaz infrarouge)
K	Potassium
K ₂ HPO ₄	Diphosphate de potassium
KCl	Chlorure de potassium
L1	Sol brut en zone clairière

L3-4	Sol amendé avec du compost en zone clairière
L7	Néosol en zone clairière L7
MDA	Malondialdéhyde
MF	Matière fraîche
Mn	Manganèse
Mo	Molybdène
MPA	Acide monophosphorique
MS	Matière sèche
N	Azote
Ni	Nickel
NSRs	Nutrient sufficiency ranges (Fourchettes de suffisance nutritionnelle)
OPA	Ortho-Phthalaldéhyde
Pb	Plomb
PCs	Phytochélatines
P	Phosphore
PNA	Plant Nutrition Analyzer
R2	Sol brut en zone recolonisée
R3-5	Sol amendé avec du compost en zone recolonisée
ROS	Reactive Oxygen Species (Espèces réactives de l'oxygène)
Se	Sélénium
SER	Système énergétique renouvelable
SE	Erreur standard
TBA	Acide thiobarbiturique
TCA	Acide trichloroacétique
TCD	Thermal Conductivity Detector (Détecteur à Conductivité Thermique)
TF	Translocation Factor (Facteur de translocation)
Ti	Titane
Tris	Hydroxyméthylaminométhane
V	Vanadium
Zn	Zinc

Liste des figures

Figure 1 : Concentration (a) en plomb (b) en cadmium (mg/kg) dans les sols de Wallonie (Pereira et al. 2012).....	3
Figure 2 : Phytodisponibilité des éléments traces dans les sols (Morel, 1996)	4
Figure 3 : Différentes formes et localisation des éléments traces dans les sols (Baize 2000)	5
Figure 4 : Absorption, transport et impact des métaux lourds sur la plante (Faizan et al. 2024).....	10
Figure 5: Fonctionnement de la phytoextraction (Bert et al. 2013).....	12
Figure 6 : Fonctionnement de la phytostabilisation (Bert et al. 2013).....	13
Figure 7 : Fonctionnement de la phyto / rhizo dégradation (Bert et al. 2013).....	14
Figure 8 : Photo d'une culture de <i>Miscanthus x giganteus</i> (Anderson et al. 2011)	16
Figure 9 : Photos de la culture de <i>Miscanthus x giganteus</i> , montrant les plants de L7 à gauche jusque L1 à droite (a) prise en août 2020, lors de l'implantation, (b) prise en août 2023	20
Figure 10 : Terrain d'expérimentation et plan de l'implantation des <i>Miscanthus</i> en jaune = zone de clairière, en vert foncé = zone recolonisée (Promisc 2020).....	21
Figure 11 : Relation d'équilibre entre les différents types d'acidité (Brady and Weil, 2008)	22
Figure 12 : Principe de la manipulation pour l'estimation de la CEC	23
Figure 13 : Dispositif d'extraction sous reflux.....	24
Figure 14 : Prise de mesure avec le poromètre (à gauche) et l'IRGA (à droite) sur une feuille de <i>Miscanthus</i>	26
Figure 15 : Récapitulatif de la manipulation Rainbow	28
Figure 16 : pH du sol en fonction des traitements : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), et R2 (sol brut en zone recolonisée) (a) pH dans l'eau (b) pH dans une solution de KCl. Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05	31
Figure 17 : Pourcentage de la teneur en eau (en bleu) et en matière sèche (en brun) contenus dans les sols des différents traitements : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05.....	31
Figure 18 : Rapport entre le carbone et l'azote dans les sols des différents traitements : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 6 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05.....	32
Figure 19 : Mesure (a) du calcium échangeable, (b) du potassium échangeable, (c) du magnésium échangeable, (d) du sodium échangeable, (e) des bases échangeables (représentant le total du Ca + K + Mg + Na) et (f) de la capacité d'échange cationique (CEC) dans les sols des différents traitements : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05	33
Figure 20 : Comparaison des niveaux de concentration (a) des éléments essentiels et (b) des éléments traces métalliques (ETM) dans les sols selon les différents traitements : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Les couleurs claires (niveaux 1 et 2) représentent les taux les plus faibles de concentration parmi tous les traitements et les couleurs plus foncées (niveaux 3 et 4) indiquent des taux élevés de cet élément en comparaison aux autres valeurs observées. Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,0534	
Figure 21 : Concentrations des éléments essentiels dans les sols mesurés par ICP pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05.....	35
Figure 22 : Concentrations des éléments traces métalliques dans les sols mesurées par ICP pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05.....	36
Figure 23 : hauteurs des plantes de <i>Miscanthus x giganteus</i> mesurées à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour les différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée).....	38
Figure 24 : Longueurs des feuilles intermédiaires des plantes de <i>Miscanthus x giganteus</i> mesurées à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée).....	39
Figure 25 : Nombre de feuilles totales des plantes de <i>Miscanthus x giganteus</i> mesurées à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée).	40

Figure 26 : Biomasse des feuilles et tiges (a) sèches et (b) fraîches de <i>Miscanthus x giganteus</i> , mesurée sur une feuille et sur un morceau de 8 centimètres de tige, pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée) Basé sur 3 réplicas par traitements. Testé en Anova 2 où p-val < 0,05.....	40
Figure 27 : Taux de photosynthèse nette mesuré avec l'IRGA à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 9 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05	41
Figure 28 : Taux de transpiration instantanée mesuré avec l'IRGA à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée) Basé sur 9 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05.....	41
Figure 29 : Concentration en CO ₂ intercellulaire mesurées avec l'IRGA à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée).....	42
Figure 30 : Taux de conductance stomatique mesurées avec (a) l'IRGA et (b) le poromètre à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 9 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05	42
Figure 31 : Concentrations en sucres mesurées par spectrophotométrie à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05.....	43
Figure 32 : Indice de chlorophylle des feuilles de <i>Miscanthus x giganteus</i> mesurées avec le PNA à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée) Basé sur 9 réplicas par traitements. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05.....	43
Figure 33 : Teneurs en azote des feuilles de <i>Miscanthus x giganteus</i> mesurées avec le PNA à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée) Basé sur 9 réplicas par traitements. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05	44
Figure 34 : Photo des <i>Miscanthus x giganteus</i>	44
Figure 35 : Concentrations en pigments ; (a) chlorophylle a, (b) chlorophylle b, (c) caroténoïde ; mesurées par spectrophotométrie à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05	45
Figure 36 : Température foliaire du <i>Miscanthus x giganteus</i> mesurée avec le PNA à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 9 réplicas par traitements. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05	46
Figure 37 : Concentrations des éléments essentiels dans les tiges (en orange) et dans les feuilles (en bleu) de <i>Miscanthus</i> mesurées par ICP à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement et par organe à chaque stade de développement. Testé en Anova 3 où p-val < 0,05.....	47
Figure 38 : (a) Récolte des rhizomes le 11/12/2024 (b) échantillon de rhizome	48
Figure 39 : Concentrations des éléments essentiels dans les rhizomes de <i>Miscanthus</i> mesurées début de l'hiver par ICP pour différents traitements de sol : L7(néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 et Krustal Wallis où p-val < 0,05	49
Figure 40 : Concentrations des éléments essentiels dans les feuilles et tiges sénescents de <i>Miscanthus</i> mesurées par ICP pour différents traitements de sol : L7(néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 et Krustal Wallis où p-val < 0,05	50
Figure 41 : Concentrations en MDA mesurées par spectrophotométrie à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05.....	51
Figure 42 : Concentrations en polyphénols mesurées par spectrophotométrie à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05.....	51

Figure 43 : Concentrations en flavonoïde mesurées par spectrophotométrie à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 répliques par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05.....	52
Figure 44 : Concentrations en glutathion total mesurées par spectrophotométrie à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 répliques par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05.....	52
Figure 45 : Rapport entre le GSH réduit et le GSSG glutathion oxydé mesurées par spectrophotométrie à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 répliques par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05.....	53
Figure 46 : Concentrations des éléments traces métalliques dans les tiges (en orange) et dans les feuilles (en bleu) de <i>Miscanthus</i> mesurées à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7(néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 répliques par traitement et par organe à chaque stade de développement. Testé en Anova 3 où p-val < 0,05.....	55
Figure 47 : Concentrations des éléments traces métalliques dans les rhizomes de <i>Miscanthus</i> mesurées début de l'hiver pour différents traitements de sol : L1 (sol brut), L4-3 (sol amendé), L7 (néosol), R2 (sol brut en zone recolonisée) et R3-5 (sol amendé en zone recolonisée). Basé sur 3 répliques par traitement. Testé en Anova 1 et Krustal Wallis où p-val < 0,05.....	56
Figure 48 : Concentrations des éléments traces métalliques dans les tiges et feuilles sénescents des <i>Miscanthus</i> de 2022 pour différents traitements de sol : néosol et sol contaminé. Basé sur 5 répliques par traitement et par organe. Testé en Anova 2 où p-val < 0,05.....	57

Liste des tableaux

Tableau 1 : Valeurs seuils et valeurs indicatives pour les métaux dans les sols. Les valeurs guides ont été définies sur la base des risques écologiques (e) ou des risques pour la santé (t) (Tóth et al. 2016).	7
Tableau 2 : Moyenne +- SE des concentrations en mg/kg des ETM retrouvés dans les différents sols par rapport aux valeurs seuils en zone industrielle basée sur le Décret Sol de la Région wallonne (2008).....	37
Tableau 3 : Moyenne +- SE des concentrations d'élément majeur en % de matière sèche retrouvés dans les <i>Miscanthus</i> des différents sols par rapport au nutrient sufficiency ranges (NSRs) des parties aériennes (Leo M. Walsh and James D. Beaton 1973; Cadoux et al. 2012; Vengavasi et al. 2024)	48
Tableau 4 : Moyenne +- SE des concentrations en $\mu\text{mol/g}$ MF des thiols totaux et des phytochélatine retrouvés dans les feuilles des <i>Miscanthus</i> cultivé sur les différents sols.....	53

Synthèse bibliographique

I. Introduction

Seules 11 % des terres de la planète sont propices à l'agriculture. En effet, les 89 % restantes sont trop humides, trop sèches, trop pentues, bref trop compliquées à exploiter en vue d'une production agricole. Les terres arables sont donc extrêmement précieuses. Cependant, certains sols propices à l'agriculture sont devenus impropres à la culture à cause des activités industrielles, minières, urbaines et agricoles qui ont entraîné une contamination mondiale des sols et des eaux. La Wallonie, suite à son déclin industriel, possède ainsi de nombreuses friches contaminées. Parmi les polluants rencontrés sur les sites contaminés, il y a les métaux lourds, des éléments inorganiques persistants qui s'accumulent dans nos sols, contaminent nos nappes aquifères et menacent toutes les espèces vivantes (Nsanganwimana et al. 2014). En effet, comme ils ne sont pas dégradables, ceux-ci peuvent s'accumuler plus ou moins rapidement et être transférés dans la chaîne alimentaire des producteurs primaires vers les animaux et les humains entraînant des impacts non-négligeables sur la santé ou l'environnement (Ali et al. 2013; Nsanganwimana et al. 2014). Les sols de ces terres nécessitent donc une gestion appropriée et des options de remédiation pour éviter la perte de surfaces arables tout en réduisant l'exposition aux métaux et les risques environnementaux et sanitaires associés (Evangelou et al. 2012; Nsanganwimana et al. 2014)

Traditionnellement, on avait recours à divers procédés physiques tels que l'excavation et l'évacuation des sols vers des décharges ou des méthodes chimiques pour nettoyer les sols. Ces traitements sont coûteux et parfois nuisibles pour l'environnement ou la fertilité des sols. Depuis les années 80, une autre façon de dépolluer les sols est apparue : la phytoremédiation. Cette technique consiste en un ensemble de technologies alternatives de remédiation basées sur l'utilisation concomitante de plantes tolérantes et de micro-organismes associés pour atténuer les risques dus à la présence excessive de contaminants dans les sols, l'eau et les sédiments (Nsanganwimana et al. 2014). De plus, la phytoremédiation permettrait d'envisager simultanément la réorientation des fonctions des sols dégradés suivant l'espèce végétale considérée en utilisant par exemple des cultures aptes à la production de biomasse valorisable. Le remplacement des cultures alimentaires par des cultures de biomasse lignocellulosique pérenne non alimentaire sur ces terres pourrait apporter de multiples avantages environnementaux, économiques et sociaux. Les avantages directs comprennent une réduction des denrées alimentaires contaminées par des métaux(luïdes) en raison de l'arrêt des cultures vivrières sur des sols marginaux, la création d'entreprises alternatives pour le développement rural régional et la réalisation des objectifs en matière d'énergie renouvelable prescrits par la Commission européenne dans la directive SER (Rusinowski et al. 2019). En raison de sa grande tolérance aux stress abiotiques et de la faible accumulation de métaux dans la biomasse aérienne, les espèces de *Miscanthus* font partie des cultures candidates potentielles pour la phytoremediation. (Nsanganwimana et al. 2014)

II. Le sol

II.1. Caractéristiques des sols

Comme l'air et l'eau, le sol est une ressource naturelle essentielle. Les sols forment la couche supérieure de l'écorce terrestre. Développés pendant des millénaires par l'action lente de facteurs climatiques et biologiques sur les matériaux géologiques, ils constituent une ressource non renouvelable à l'échelle de la vie humaine. Ils sont indispensables au bon fonctionnement des écosystèmes (cycle de l'eau, cycles

biogéochimiques des éléments, régulation du climat...) et aux activités anthropiques (production agricole, support physique pour toute infrastructure...). Le sol possède de multiples fonctions comme : support pour les organismes et microorganismes vivants, réservoir de matière organique et minérale, lieu de transformation, système épurateur, régulateur des flux et des échanges dans les cycles bio géochimiques (cycle de l'azote, du carbone...)(Huynh 2009; Michel 2010).

II.2. Contamination des sols par les métaux lourds

Le sol se construit à partir des roches-mères, qui sous l'action du temps se dégradent plus ou moins vite et libèrent des éléments qui seront transférés au sol néoformé. Le sol a donc une concentration naturelle en métaux lourds. Celle-ci varie selon la nature de la roche et des minéraux qui la constituent, sa localisation et son âge (Toulaïb 2021).

Cependant, la source majeure d'apport des métaux dans les sols est d'origine anthropique. Partout dans le monde, les sols sont menacés par diverses activités humaines qui réduisent leur disponibilité et leur capacité à assurer leurs fonctions à long terme. Une pollution du sol est considérée lorsque les composés introduits altèrent son fonctionnement ou constituent une menace pour la santé humaine (Masciandaro et al. 2013). Les principaux types de pollutions anthropiques responsables de l'augmentation des flux de métaux sont la pollution atmosphérique (rejets urbains et industriels), la pollution liée aux activités agricoles et la pollution industrielle. Dans la plupart des cas, la pollution du sol est l'héritage de pratiques du passé qui ne tenaient pas suffisamment compte des enjeux environnementaux (Huynh 2009; Toulaïb 2021).

II.3. Risques de la pollution des métaux lourds

Les enjeux de la pollution locale des sols sont à envisager à plusieurs niveaux (Service public de Wallonie) :

- Risques pour la santé humaine (via diverses voies d'exposition : ingestion de particules de sol, ingestion d'aliments produits sur des sols contaminés, inhalation de polluants volatils...)
- Risques pour les eaux souterraines : les sols jouent un rôle de filtre épurateur qui est le corollaire de leur capacité de fixer les éléments traces et à les accumuler. La libération des éléments traces et leur entraînement par les eaux de ruissellement ou d'infiltration peut causer une dégradation des milieux aquatiques et réduire la qualité des eaux, qui peuvent devenir impropres à la consommation sans traitements préalables
- Risques pour les écosystèmes (toxicité pour les organismes vivants à tous les niveaux de la chaîne alimentaire).
- Frein au redéveloppement économique local (manque d'attrait pour les investisseurs, gel des terrains à vocation économique...).

L'accumulation des éléments traces dans les sols peut avoir des conséquences à long terme sur les différentes fonctions du sol (Pereira and Sonnet 2007). En effet, en cas de pollution, les micro-organismes ralentissent leurs activités. Leur diversité et leurs interactions diminuent. Or, ces microorganismes jouent un rôle important dans le recyclage biochimique des éléments nutritifs du sol (décomposition de la matière organique) et dans la dégradation des polluants. Si les concentrations des éléments traces sont très élevées, la fertilité du sol devient même compromise en raison de la toxicité des éléments pour les plantes, la faune et la microfaune du sol.(Mathieu et al. 2008; Toulaïb 2021)

II.4. Situation en Wallonie

La gestion des pollutions est encadrée par le décret "Sols" qui applique le principe du pollueur-payeur. Le passif est particulièrement important en Wallonie du fait de son riche passé industriel. Selon la Banque de données de l'état des sols (BDES), une attention particulière doit être portée à 39 500 parcelles cadastrales, couvrant une superficie de près de 40 000 ha (2,3 % du territoire, 15 % de la superficie artificialisée) qui ont déjà fait, ou doivent encore faire l'objet de démarches de gestion du sol (données au 31/03/2021)(Pereira et al. 2012 ; Service public de Wallonie)(Figure 1).

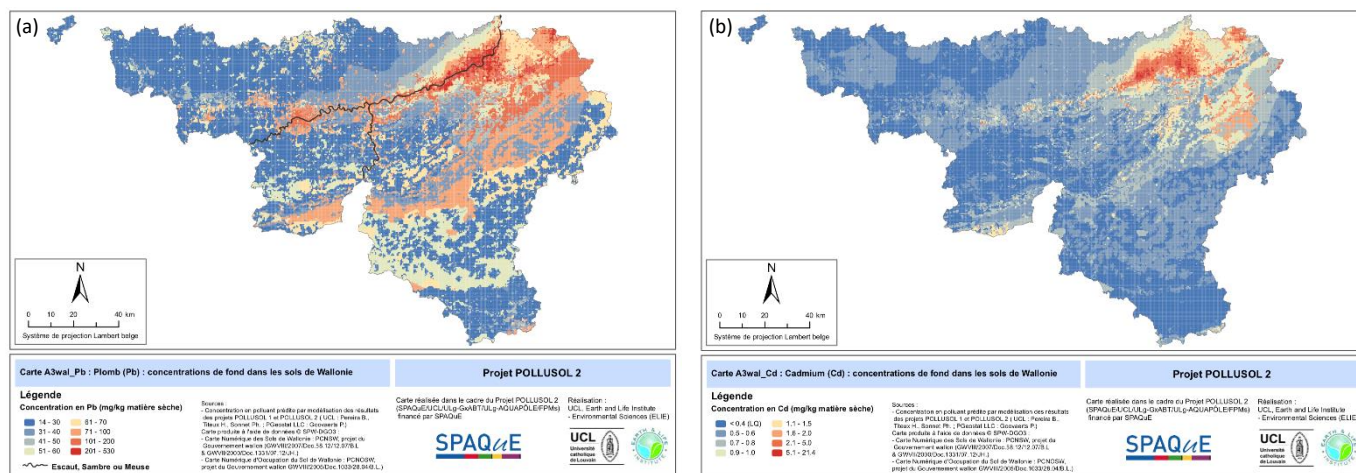


Figure 1 : Concentration (a) en plomb (b) en cadmium (mg/kg) dans les sols de Wallonie (Pereira et al. 2012)

III. Les métaux lourds

III.1. Définition

D'un point de vue purement chimique, les éléments de la classification périodique formant des cations en solution sont des métaux (Huynh 2009).

D'un point de vue physique, le terme « métaux lourds » désigne les éléments métalliques naturels, métaux et dans certains cas métalloïdes caractérisés par une masse volumique supérieure à 5 g/cm³ (Adriano 2001). Ils sont également qualifiés d'éléments traces métalliques (ETM) car leur liste inclut des métaux (Zn, Cu, Co, Cr, Ti, Hg, Ni, Mo, Pb) et d'autres qui sont des métalloïdes ou non métaux (As, Se)(Toulaïb 2021).

D'un point de vue biologique, on en distingue deux types en fonction de leurs effets physiologiques et toxiques : métaux essentiels et métaux toxiques :

- Les métaux essentiels sont des éléments indispensables à l'état de trace pour de nombreux processus cellulaires et qui se trouvent en proportion très faible dans les tissus biologiques (Loué 1993). Ainsi le cuivre (Cu), le fer (Fe), le manganèse (Mn), le nickel (Ni) et le zinc (Zn) sont indispensables pour les fonctions physiologiques et biochimiques des plantes. Certains peuvent devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil. C'est le cas notamment du cuivre (Cu), du nickel (Ni), du zinc (Zn) et du fer (Fe) (Göhre and Paszkowski 2006).
- Les métaux toxiques ont un caractère polluant avec des effets toxiques pour les organismes vivants même à faible concentration. Ils n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule. C'est le cas du plomb (Pb), du mercure (Hg), du cadmium (Cd), du chrome (Cr). Ils sont même susceptibles de limiter la production de biomasse (Loué 1993).

III.2. Rôles des ETM dans les plantes

Certains éléments traces sont nécessaires aux processus biologiques. Ils agissent comme cofacteurs de nombreuses enzymes et sont associés aux chaînes de transport des électrons au sein des chloroplastes et des mitochondries (Zenk 1996).

- Le zinc intervient dans de nombreuses réactions enzymatiques (déshydrogénases, protéinases, peptidases) et joue un rôle important dans le métabolisme des glucides et dans la synthèse des auxines (Kabata-Pendias 2000; Taiz and Zeiger 2003).
- Le nickel est essentiel dans de nombreuses enzymes comme les déshydrogénases, les hydrogénases et les éthylréductases.
- Le fer contribue à la photosynthèse, la fixation de l'azote, la respiration mitochondriale et la biosynthèse des hormones.
- Le molybdène entre dans la synthèse de deux enzymes nécessaires à l'assimilation de l'azote (nitrate réductase et xanthine déshydrogénase)
- Le bore intervient dans la synthèse des acides nucléiques et protéines et dans le transport des sucres. Il stimule la germination et l'élongation du tube pollinique. Le bore est utilisé avec le calcium dans la synthèse des parois cellulaires et est essentiel à la division cellulaire.
- Le manganèse est cofacteur de nombreux enzymes en particulier des décarboxylases et des déshydrogénases. Il est impliqué avec d'autres enzymes activés par des cations et l'évolution de la photosynthèse (Taiz and Zeiger 2003).

III.3. Mobilité et biodisponibilité des ETM

III.3.1. Définitions

La phytodisponibilité est l'aptitude d'un élément-trace métallique à être transféré à la plante. Le risque d'une toxicité aux ETM résulte non pas des concentrations totales relevées dans les sols pollués mais de leur fraction biodisponible (Adriano 2001; Remon 2006). Bien que tous les ETM soient non-biodégradables, certains sont mobilisables : autrement dit, ils peuvent être absorbés par les systèmes racinaires des plantes, par diffusion, endocytose ou encore par des transporteurs métalliques (Ghori et al. 2019; Haider et al. 2021). La mobilité des éléments dans le sol et leur répartition entre les phases solide et liquide reposent sur des mécanismes complexes de différentes natures. De plus, le sol est un système dynamique où les composés se déplacent continuellement par des mécanismes de dissolution/précipitation, complexation, absorption/adsorption... (Tremel-Schaub and Feix 2005) (Figure 2).

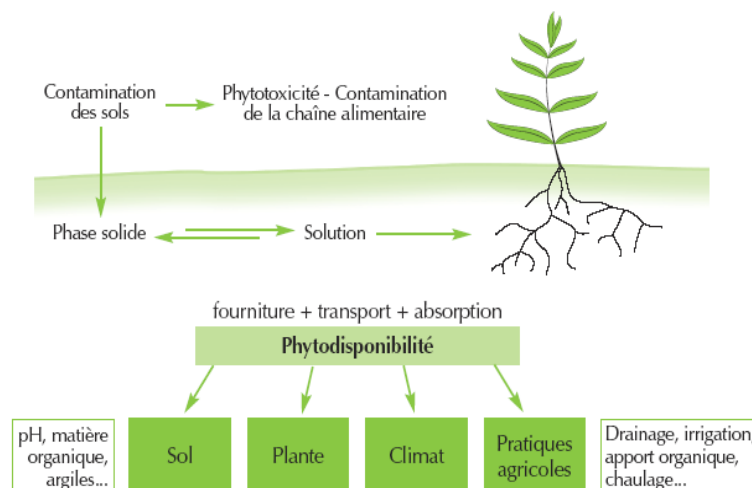


Figure 2 : Phytodisponibilité des éléments traces dans les sols (Morel, 1996)

III.3.2. Facteurs influençant la biodisponibilité des métaux

La biodisponibilité et donc la toxicité d'un métal dépend de sa spéciation autant que des facteurs environnementaux (la température, la lumière, l'humidité, les pratiques culturales) et des propriétés physicochimiques du sol comme la capacité d'échange de cation (CEC), le pH, le potentiel redox et les activités biologiques.

III.3.2.1 La spéciation des ETM

La biodisponibilité est dépendante de la spéciation de l'élément concerné. La spéciation peut être définie comme la forme chimique dans laquelle se trouve un élément dans un milieu donné (Deneux-Mustin et al. 2003). Elle varie suivant l'état d'oxydation, la forme ionique, la structure moléculaire, l'association physique et le compartiment du sol considéré (Bourrelie et al. 1998). Un même élément peut avoir différents comportements. L'évolution de la spéciation de l'élément est l'un des facteurs directs pour caractériser sa mobilité, sa disponibilité, sa toxicité et sa réactivité avec les autres espèces présentes. Les éléments traces du sol se répartissent et se déplacent dans les six compartiments schématisés à la figure 3.



Figure 3 : Différentes formes et localisation des éléments traces dans les sols (Baize 2000)

Ils peuvent être présents :

- Dans la phase liquide du sol sous formes soluble, colloïdale ou particulaire
- Sous forme échangeable aux surfaces des feuillets d'argile et des matières organiques
- Dans les réseaux cristallins des minéraux
- Absorbés sur des oxydes métalliques
- Présents au niveau de la biomasse
- Complexés dans des macromolécules organiques (Baize 2000)

III.3.2.2 Les propriétés physico-chimiques du sol intervenant dans la mobilité des ETM

▪ Le pH

Le pH du sol est un des facteurs clés affectant directement la phytodisponibilité. En effet, à pH faible (<5,0) les cations métalliques ont une grande mobilité et sont plus réactifs, alors qu'à pH élevé (>8,0) ils ont tendance à s'adsorber sur les particules de sol (formation de ligands organométalliques), ce qui diminue leur mobilité et donc leur disponibilité pour les plantes (Shah and Daverey 2020).

▪ Le potentiel d'oxydoréduction

Le potentiel redox est étroitement lié au pH puisqu'il augmente quand celui-ci diminue. Il a un effet sur la solubilité des éléments traces et donc influence leur absorption (Kherbani 2011). Le potentiel redox exprime la capacité des molécules du sol à réaliser des échanges d'électrons entre elles, ce qui leur permet de passer d'une forme à l'autre pouvant ainsi améliorer la disponibilité des nutriments pour la plante. En conditions réduites, la mobilité des métaux lourds est plus faible (Vanobberghen 2010).

▪ **La capacité d'échange cationique (CEC)**

On retrouve dans le sol des composés possédant des charges positives ou négatives de surface qui permettent l'échange et l'adsorption d'ions et de molécules organiques. Parmi ces composés, on retrouve les feuillets des argiles, les oxydes de métaux ainsi que la matière organique. Un taux élevé de matière organique dans le sol peut entraîner une plus grande rétention des ETM (Cipullo et al. 2018).

Les éléments traces peuvent être liés à la fraction argileuse du sol ainsi qu'à d'autres phases minérales comme les oxydes de fer, d'aluminium, de manganèse ou les phosphates, les carbonates.... La présence de ces derniers favorise l'immobilisation des métaux lourds (Vanobberghen 2010).

La CEC représente la quantité maximale de cations qu'un poids déterminé de sol est capable de retenir ou, autrement dit, le total des charges négatives du sol disponibles pour la fixation de cations métalliques ou d'ions H^+ (Tremel-Schaub and Feix 2005).

Plus la CEC du sol est élevée, plus les cations métalliques sont absorbés ou complexés par ses constituants (matières organiques, argiles et oxydes) (Kherbani 2011). Leur mobilité diminuant fait qu'ils sont moins susceptibles d'être absorbés par la plante.

▪ **L'activité biologique des microorganismes**

Les microorganismes constituent un composant important du sol, ils ont développé différents mécanismes et voies métaboliques afin de s'adapter dans des milieux variés. Certains de ces mécanismes affectent directement ou indirectement la mobilité des métaux au sein du sol (Deneux-Mustin et al. 2003).

Les principaux phénomènes d'action sur la mobilité des polluants métalliques sont la solubilisation, l'insolubilisation et la volatilisation (Huynh 2009).

- La solubilisation provient de la production de composés acides. Certaines bactéries chimolithotrophes oxydent les formes réduites de fer et du soufre contenues dans les sulfures et produisent de l'acide sulfurique, susceptible de dissoudre les silicates, les phosphates, les oxydes et les sulfures, libérant ainsi les métaux lourds contenus. Les champignons et les racines des plantes excrètent eux aussi des acides afin d'augmenter leur absorption de nutriments
- L'insolubilisation constitue le phénomène opposé
- La volatilisation repose sur l'action directe de certains microorganismes sur le degré d'oxydation de l'élément métallique. C'est le cas du mercure, de l'arsenic et du sélénium. (Deneux-Mustin et al. 2003) (Kherbani 2011)

III.3.2.3. Les facteurs environnementaux

Les facteurs climatiques tels que la température et la lumière ont des incidences non seulement sur la croissance des plantes mais aussi sur leur prélèvement d'éléments traces.

Le transfert d'un polluant dans la plante augmente avec la température du sol et la lumière. Une augmentation de la température sur les feuilles de la plante provoque un surcroît de transpiration, puis une augmentation du flux de masse et dans certains cas, du prélèvement des ETM (Tremel-Schaub and Feix 2005). L'humidité intervient indirectement en favorisant l'activité biologique, en modifiant le potentiel d'oxydoréduction du sol ou encore en influant sur la profondeur d'enracinement.

Enfin, les pratiques culturales peuvent aussi influencer la mobilité des métaux en modifiant les propriétés du sol et les conditions physico-chimiques, à la suite par exemple de l'apport de fertilisants.

III.4. Contamination des plantes aux ETM

À la suite des pollutions, les plantes peuvent être exposées à des excès de minéraux. Les concentrations critiques de toxicité pour des teneurs élevées en microéléments sont définies comme étant les concentrations qui limitent de 10% minimum la production de masse de matière sèche d'un tissu (Hopkins 2003). Ces concentrations varient fortement selon les microéléments et les espèces végétales. Ces excès entraînent des conséquences cellulaires qui s'intègrent à l'échelle des tissus et affectent la production de biomasse et donc les rendements, parfois allant jusqu'à la mort de la plante (*Tableau 1*).

En réponse à la présence de polluants inorganiques dans leur environnement, les végétaux ont développé des stratégies : la stratégie d'évitement et la stratégie de tolérance

- La stratégie d'évitement : les végétaux se protègent des effets toxiques des éléments traces en limitant leur absorption. Ainsi, les végétaux peuvent limiter les entrées des polluants atmosphériques via une régulation de l'ouverture des stomates. En cas de pollution dans le sol, la stratégie de défense d'une plante est de réduire l'absorption de métaux lorsqu'elle est exposée à une forte concentration exogène en ETM, via l'utilisation d'exsudats cellulaires et racinaires empêchant les métaux d'entrer dans la cellule (Ghori et al. 2019). Certaines espèces mettent en œuvre des mécanismes d'évitement en limitant et en maintenant des niveaux faibles et constants d'éléments traces dans leurs tissus.
- La stratégie de tolérance se base sur la capacité de la plante à détoxifier les métaux. La stratégie consiste à utiliser des mécanismes qui fixent, transportent, séquestrent et détoxifient les ions métalliques dans les vacuoles et, notamment pour le cadmium, dans les parois de la plante (Ghori et al. 2019). Ces mécanismes permettent de limiter les effets néfastes des métaux dans l'organisme. Parmi les végétaux tolérants, on peut distinguer deux types de comportement vis à vis des éléments traces : les espèces bio indicatrices et les espèces hyperaccumulatrices.
 - Les espèces végétales bio indicatrices poussent spontanément sur des sols plus ou moins riches en éléments traces. Elles peuvent être exposées à de fortes teneurs en ETM et présentent des mécanismes de tolérance et de détoxification efficaces.
 - Les espèces hyperaccumulatrices sont spécifiquement adaptées aux sols riches en métaux lourds dans lesquels elles prospèrent (Kherbani 2011).

Tableau 1 : Valeurs seuils et valeurs indicatives pour les métaux dans les sols. Les valeurs guides ont été définies sur la base des risques écologiques (e) ou des risques pour la santé (t) (Tóth et al. 2016).

Substance (symbol)	Threshold value mg/kg	Lower guideline value mg/kg	Higher guideline value mg/kg
Antimony (Sb) (p)	2	10 (t)	50 (e)
Arsenic (As) (p)	5	50 (e)	100 (e)
Mercury (Hg)	0.5	2 (e)	5 (e)
Cadmium (Cd)	1	10 (e)	20 (e)
Cobalt (Co) (p)	20	100 (e)	250 (e)
Chrome (Cr)	100	200 (e)	300 (e)
Copper (Cu)	100	150 (e)	200 (e)
Lead (Pb)	60	200 (t)	750 (e)
Nickel (Ni)	50	100 (e)	150 (e)
Zinc (Zn)	200	250 (e)	400 (e)
Vanadium (V)	100	150 (e)	250 (e)

III.5. Impact des métaux lourds sur la physiologie de la plante

III.5.1. Impact sur la croissance

Une inhibition de croissance est souvent la première manifestation visible d'une toxicité des métaux lourds. En fonction des espèces et de la nature du métal concerné, cette inhibition peut affecter de façon différente le système racinaire et aérien (Riyazuddin et al. 2021). La toxicité peut induire une modification de la morphologie de la plante et peut avoir un impact sur le rythme d'apparition des feuilles, la surface des feuilles et l'élongation de la tige (Tyagi et al. 2024). De même, les métaux lourds peuvent avoir un impact déterminant sur l'architecture du système racinaire, ce qui n'est pas sans conséquence sur les cinétiques d'absorption des éléments minéraux et sur la résistance de la plante au stress hydrique (Sabreena et al. 2022; Noor et al. 2022). L'inhibition de croissance peut résulter d'une réduction des taux de division cellulaire et/ou d'une modification dans les processus d'élongation cellulaire (Kumar et al. 2022; Naz et al. 2022). Une réduction des taux de mitose peut être la conséquence de l'impact direct des éléments toxiques sur le déroulement du cycle cellulaire. Certains métaux lourds, comme le plomb ou le cadmium, peuvent ainsi compromettre la formation du fuseau mitotique en inhibant la formation des microtubules (Al-Obaidi et al. 2024). Les multiples gènes qui contrôlent le déroulement du cycle cellulaire peuvent voir leur expression modifiée par la présence de métaux lourds (Thakur et al. 2022). Outre ces causes cytologiques, le métabolisme énergétique de la plante exposée aux métaux lourds est compromis et les quantités d'énergie disponible pour assurer la réplication de l'ADN et la migration des chromosomes sont souvent insuffisantes (Tyagi et al. 2024). Une réduction des taux d'élongation cellulaire peut résulter d'une modification au niveau des propriétés des parois ou d'une altération du statut hydrique se traduisant par une diminution de la pression de turgescence (Zhang et al. 2024; Ningombam et al. 2024). La paroi est une structure complexe dont les propriétés mécaniques dépendent de la composition en polymères et de leur disposition. La fixation de métaux lourds par interaction électrostatique avec les charges négatives des polymères pariétaux peut être considérée comme une stratégie de défense vis-à-vis des métaux lourds, mais elle a pour conséquence de réduire le coefficient d'extensibilité, conduisant à une réduction des taux d'élongation (Tyagi et al. 2024).

III.5.2. Impact des métaux lourds sur le statut hydrique de la plante

Les métaux lourds présents dans la solution du sol sont en concentrations trop faibles que pour induire un stress osmotique direct. Pourtant, le statut hydrique de la plante exposée à ces éléments est presque toujours affecté (Zhu et al. 2024). Ceci se marque par une importante réduction des teneurs en eau, particulièrement au niveau des feuilles. Les métaux lourds peuvent avoir un effet négatif sur le fonctionnement des aquaporines impliquées dans l'absorption de l'eau : si ces effets sont abondamment décrits pour le mercure, d'autres éléments comme le chrome ou le nickel peuvent avoir des effets comparables (Islam et al. 2024). Au niveau des parties aériennes, les effets toxiques des métaux lourds se marquent par une importante altération du fonctionnement des stomates. Certains éléments comme le Cd peuvent interférer avec le fonctionnement des canaux calcium situés entre les cellules de garde et les cellules annexes, compromettant de ce fait les mécanismes de fermeture des stomates. Certains éléments sont également susceptibles de compromettre le fonctionnement des ATPases impliquées dans la régulation stomatique ou d'avoir un impact indirect sur les canaux K^+ qui contrôlent la turgescence des cellules de garde et donc les phénomènes d'ouverture et de fermeture des stomates (Asgher et al. 2024). Une altération au niveau de la différenciation des tissus vasculaires est également rapportée et se traduit par une réduction du diamètre des vaisseaux xylémiens pouvant compromettre l'approvisionnement en eau vers les surfaces transpirantes (Feki et al. 2021; Jorjani and PehliVan Karakaş 2024).

III.5.3. Impact des métaux sur la nutrition minérale

La plante possède des transporteurs spécifiques pour assurer son approvisionnement en éléments essentiels, comme le Cu ou le Zn. Toutefois, lorsque ces éléments sont présents en trop fortes concentrations dans la solution du sol, ces transporteurs sont saturés, et la plante peut même réduire l'expression des gènes qui codent pour ces transporteurs (Yang et al. 2022; Cao et al. 2023). Ces éléments peuvent alors pénétrer dans la plante par le biais de transporteurs peu spécifiques, tels que des NSCC (Non Selective Cation Channel) (Yang et al. 2022). C'est également le cas pour des éléments non essentiels, comme le plomb, le cadmium, le chrome ou le mercure pour lesquels il n'existe pas de transporteurs spécifiques. Ces éléments pénètrent également par des canaux peu spécifiques ou par des transporteurs de calcium ou de fer qui présentent une similarité avec les ions incriminés. Les transporteurs se « trompent » et absorbent alors un élément toxique à la place d'un élément essentiel (Singh et al. 2022; Mubeen et al. 2023; He et al. 2024). Il peut donc en résulter une carence secondaire en certains éléments et les situations de carence en fer sur sol contaminé au Cd sont ainsi souvent rapportées (Zhao et al. 2022).

La nature des transporteurs impliqués dans l'absorption accidentelle d'éléments toxiques peut être fonction de la spéciation de l'élément en solution. L'arsenic, par exemple, peut exister sous deux formes : la forme oxydée (As (V)) est présente sous forme d'arsenate et est absorbée par des transporteurs de phosphate, alors que la forme réduite (As (III)) est présente sous forme d'arsenite absorbée par les aquaporines (Kumar et al. 2022; Huslina et al. 2024). Par ailleurs, le chargement des lames vasculaires fait également appel à des transporteurs plus ou moins spécifiques qui vont jouer un rôle clé dans le transport des éléments vers les organes photosynthétiques (He et al., 2024 ; Wang et al., 2024). Enfin, les métaux lourds peuvent également avoir un impact négatif sur le fonctionnement de certaines enzymes impliquées dans l'assimilation de l'azote (Chen et al. 2022).

III.5.4. Impact des métaux sur les activités photosynthétiques

La photosynthèse est incontestablement l'une des fonctions physiologiques la plus sensible à l'impact des métaux lourds. Il est généralement admis qu'une inhibition de croissance peut être attribuée à des causes stomatiques ou à des causes non-stomatiques. Les phénomènes qui s'y rapportent ne sont pas mutuellement exclusifs et une inhibition de photosynthèse est rarement due à une seule cause (Alsafran et al. 2022; Al-Obaidi et al. 2024).

L'inhibition stomatique est liée à une réduction de la conductance stomatique et résulte d'une tentative de la plante de limiter ses pertes en eau. Il en résulte une réduction importante de l'approvisionnement en CO₂ se traduisant par une réduction du taux de photosynthèse nette et une augmentation de la fréquence des phénomènes de photorespiration (Hansa et al. 2024).

L'inhibition non stomatique trouve son origine dans de multiples causes. Les métaux lourds induisent une réduction des teneurs en chlorophylle conduisant à des phénomènes de chloroses (Adnan et al. 2024). Une désorganisation structurale des photosystèmes contribue à compromettre la capture de l'énergie lumineuse et les antennes collectrices sont particulièrement sensibles à cet égard (Faizan et al. 2024). Une altération des membranes thylakôidiennes perturbe les chaînes de transport des électrons, compromettant de ce fait l'efficacité de la phase claire de la photosynthèse (Alsafran et al. 2022; Noor et al. 2022). Il en va de même de la perturbation structurale des granas dont l'empilement n'est pas garanti. Les enzymes impliquées dans le cycle de Calvin notamment l'activité de la Rubisco peuvent être altérées (Moeen-ud-din et al. 2023). L'activation d'enzymes clés du cycle de Calvin par le système ferrédoxine/thiorédoxine est particulièrement sensible à un excès de métaux lourds comme le zinc, le cuivre ou le cadmium (Thakur et al. 2022; Tyagi et al. 2024). Il en va de même pour le translocateur phosphate dont l'altération réduit le transport de trioses-phosphate dans le cytoplasme et donc la synthèse de sucres (Chen et al. 2022; Moeen-ud-din et al. 2023).

III.5.5. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif n'est pas propre à la toxicité des métaux lourds. En effet, tous les stress ont pour conséquence la synthèse de composés d'oxygène actif, hautement réactifs (ROS : Reactive Oxygen Species) qui sont susceptibles d'induire de nombreux dégâts aux structures cellulaires dans la mesure où ces ROS peuvent réagir avec les lipides membranaires ou les protéines. Ils peuvent aussi réagir avec l'ADN et avoir une action mutagène (Feki et al. 2021; Riyazuddin et al. 2021). Les ROS sont souvent produits à proximité des chaînes de transport des électrons, au niveau des chloroplastes et des mitochondries : lorsque le transport des électrons est perturbé, ceux-ci sont éjectés des voies de transport et se fixent à des composés oxygénés pour y induire la formation de composés toxiques présentant un électron non-apparié comme les anions superoxydes (O_2^-), le radical hydroxyl ($OH^\cdot$) ou le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Alsafran et al. 2022). Chez les plantes, des métaux de transition comme le cuivre ou le fer qui peuvent passer rapidement de la forme réduite à la forme oxydée, sont particulièrement toxiques car ils contribuent à la production auto-catalytique de ROS par le biais des réactions de Fenton et des réactions de Haber-Weiss. (Niekerk et al. 2024). Les ROS sont les principaux agents responsables d'une altération des structures chloroplastiques.

Le radical hydroxyl ($OH^\cdot$) est probablement le ROS le plus toxique pour les cellules végétales : ce composé est hautement réactif, sa demi-vie est très courte, et la plante ne possède pas de systèmes de protection pour le désactiver. Le peroxyde d'hydrogène est le composé le moins instable et celui qui possède la demi-vie la plus longue. De plus, le H_2O_2 pourrait aussi jouer un rôle d'agent de signalisation car il peut traverser les membranes biologiques et se déplacer dans la plante (Niekerk et al. 2024). A côté de ces systèmes de protections enzymatiques, la plante possède également des composés anti-oxydants qui lui permettent de faire face à un stress oxydatif : c'est particulièrement le cas pour l'ascorbate, le tocophérol et surtout le glutathion puisqu'il sert de précurseur à des phytochélatines dont la fonction est de piéger certains métaux lourds au sein des cellules (Ashaolu et al. 2023; Faizan et al. 2024) (Figure 4).

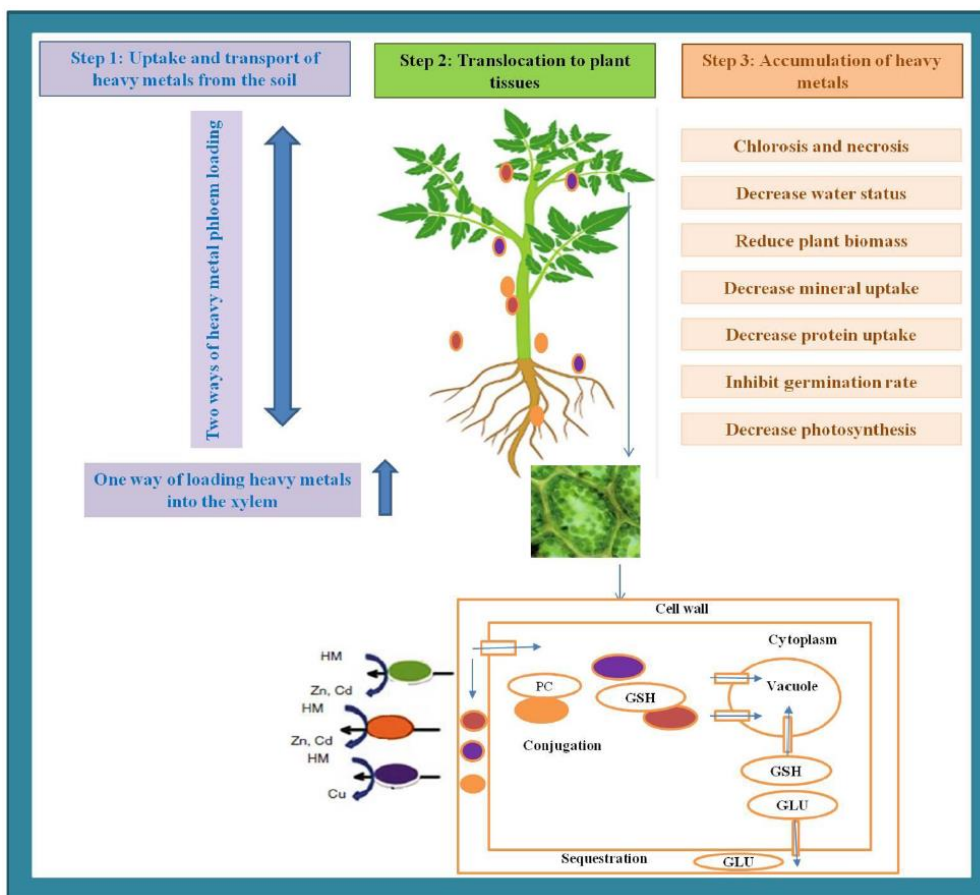


Figure 4 : Absorption, transport et impact des métaux lourds sur la plante (Faizan et al. 2024)

III.5.6. Impact des métaux lourds sur le statut hormonal de la plante

La croissance et le développement des plantes sont placés sous le contrôle de multiples composés de nature hormonal. Par exemple, l'éthylène et l'acide abscissique (ABA) sont des hormones « de stress » dont la surproduction est très souvent observée en présence de métaux lourds (Noor et al. 2022). L'éthylène est responsable de processus de sénescence : elle accélère la dégradation de la chlorophylle dans les feuilles accumulant les métaux lourds en stimulant les chlorophyllases (Sharma et al. 2024). Elle contribue par ailleurs à la dégradation des protéines, ainsi qu'à l'altération des structures membranaires indépendamment des stress oxydatifs (Shen et al. 2022). L'ABA assume des fonctions bien connues dans la régulation des stomates, mais il peut aussi, au niveau de plantes contaminées par des métaux lourds, induire des phénomènes de sénescence conduisant à une chute de feuilles, ainsi qu'à une digestion de structures pariétales (Moeen-uddin et al. 2023).

L'auxine et les gibbérellines constituent (à l'inverse de l'éthylène ou de l'ABA) des familles complexes regroupant de multiples molécules. Elles interviennent selon des modalités distinctes dans les phénomènes d'élongation de la tige (Noor et al. 2022). Plusieurs études rapportent un impact des métaux lourds sur ces processus, notamment en induisant une interconversion des différentes formes, certaines étant hormonalement moins actives que d'autres (Ningombam et al. 2024). Un impact du plomb, du nickel et du cuivre sur la conjugaison des auxines avec des sucres ou des composés phénoliques est également rapporté, la conjugaison ayant pour effet de réduire l'activité de l'hormone. Les cytokinines ont une action antagoniste de l'éthylène et ont une action anti-sénescence. Une réduction des teneurs en cytokinines à la suite d'une exposition aux métaux lourds est également mentionnée dans la littérature (Zhang et al. 2024; Sharma et al. 2024). Chez certaines espèces de graminée, l'effet des métaux lourds n'est pas de réduire la synthèse des cytokinines mais bien leur translocation depuis les racines vers les parties aériennes (Zhang et al. 2024). De même des métaux lourds ont un impact sur le métabolisme des acides salicylique et jasmonique (Riyazuddin et al. 2021).

Les phytohormones jouent également un rôle crucial dans les voies de transduction qui conditionnent la réponse de la plante aux paramètres de l'environnement. Chacune des hormones identifiées à ce jour peut en effet, par l'intermédiaire de facteurs de transcription, conditionner l'expression de très nombreux gènes (Kumar et al. 2022; Naz et al. 2022).

Enfin, ces hormones sont perçues par des « récepteurs », le plus souvent membranaires, qui après fixation du composé hormonal déclenche en aval une série de processus conduisant à la réponse cellulaire. Pour chaque composé hormonal, il existe plusieurs récepteurs dont la sensibilité varie : la réponse de la cellule sera donc aussi fonction de la densité et de la nature des récepteurs présents (Feki et al. 2021). Des travaux récents ont mis en lumière que les métaux lourds pouvaient avoir un impact à ce niveau, modifiant parfois de façon déterminante la sensibilité de certains tissus à l'un ou l'autre composé hormonal (Wang and Aghajani Delavar 2024).

IV. La phytoremédiation

IV.1. Les techniques de phytoremédiation

La phytoremédiation reprend un ensemble de techniques, se basant sur l'utilisation de plantes qui tolèrent, dégradent, fixent ou accumulent plus ou moins efficacement des composés polluants. Cinq processus fondamentaux peuvent être identifiés lorsque les plantes sont utilisées pour la réhabilitation des sites contaminés (Pidlisnyuk et al. 2014).

1. **Phytostimulation** : les plantes stimulent des microorganismes dépollueurs (champignons, bactéries...)
2. **Phytostabilisation** : les plantes stabilisent mécaniquement les sols pollués et empêchent l'érosion en masse et le transport aérien vers d'autres environnements.
3. **Phytoextraction / phytoaccumulation** : Les plantes extraient et absorbent les contaminants dans les sols par les racines, puis transfèrent et accumulent ceux-ci dans leurs parties récoltables (feuilles, tiges et racines).
4. **Phytovolatilisation** : les plantes volatilisent les contaminants dans le sol ou l'eau vers l'air.
5. **Phytodégradation / rhizodégradation** : les plantes minéralisent ou assimilent les contaminants présents dans le sol ou l'eau. Les contaminants organiques sont décomposés en composés moins toxiques.

IV.2. Techniques de phytoremédiation appliquées aux ETM

Lorsqu'elle est appliquée aux sols pollués par les ETM, la phytoremédiation comprend principalement la phytoextraction et la phytostabilisation.

La phytoextraction est l'utilisation in situ de plantes qui, en accumulant les éléments traces dans leurs parties aériennes récoltables, permettent de réduire les concentrations de polluants dans les sols et ainsi contribuent à leur dépollution. Les plantes n'ont accès qu'à une partie des polluants dans le sol (la fraction dite « disponible ») et n'ont d'influence que sur la partie de sol colonisée par leurs racines, d'où l'importance du choix de plantes avec un système racinaire dense et profond. Cette technique ne permet de réaliser qu'une extraction partielle puisqu'elle se limite à la fraction biodisponible des contaminants et n'interagit qu'avec une partie du sol, la rhizosphère (Bert et al. 2013) (*Figure 5*).

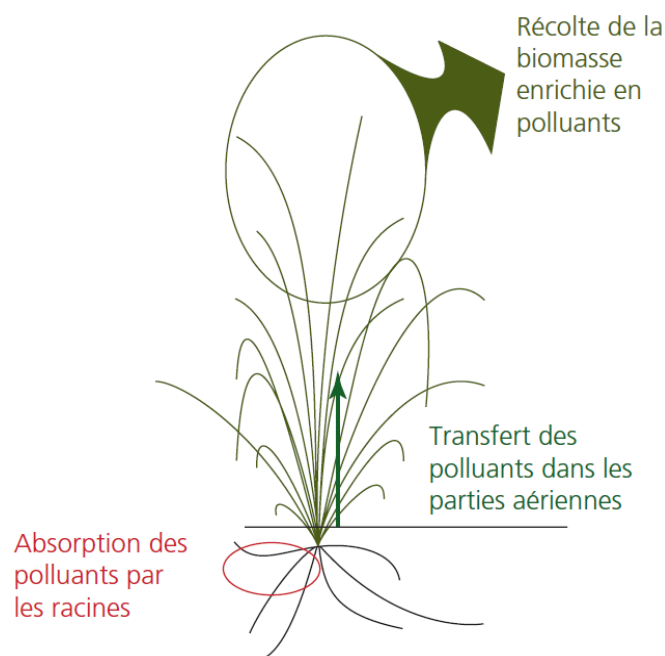


Figure 5 : Fonctionnement de la phytoextraction (Bert et al. 2013)

La phytostabilisation n'est pas une technique de dépollution en soi mais un mode de gestion destiné à stabiliser ou immobiliser les éléments traces du sol. Les plantes réduisent la mobilité des polluants et donc les transferts horizontaux et verticaux de ceux-ci (Bert et al. 2013). Les contaminants sont incorporés dans la lignine des parois cellulaires des cellules des racines, ou dans l'humus, tandis que les métaux sont précipités par l'action directe des exsudats racinaires et sont ensuite piégés, sous une forme insoluble, dans la matrice du sol (Shah and Daverey 2020). Cette technique permet d'éviter la mobilisation de ces contaminants et de limiter leur diffusion dans le sol (Favas et al. 2014; Oladoye et al. 2022). La biomasse produite sur un sol phytostabilisé contient peu de polluants car les plantes sélectionnées excluent les polluants ou présentent un transfert limité de polluants dans leurs parties aériennes. Il est donc envisageable que cette biomasse soit récoltée et valorisée dans le cadre d'une filière bois-énergie ou d'une filière industrielle non alimentaire. Il est possible de réduire la biodisponibilité des éléments traces grâce à l'utilisation d'association d'amendements ou de microorganismes. On retrouve ces procédés sous la notion de phytostabilisation aidée ou phytostabilisation assistée (Kherbani 2011) (Figure 6).

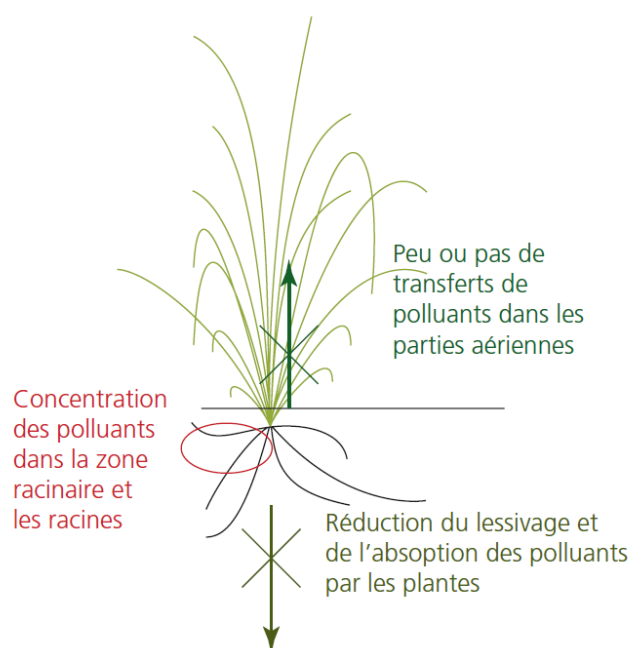


Figure 6 : Fonctionnement de la phytostabilisation (Bert et al. 2013)

Enfin, les contaminants organiques peuvent aussi être dissipés soit par phytodégradation via les enzymes et les métabolites secondaires des plantes, soit par rhizoremédiation via les exoenzymes et les microorganismes de la rhizosphère (Reichenauer and Germida 2008; Nsanganwimana et al. 2014). La phytodégradation et la rhizodégradation peuvent se produire simultanément avec la phytoextraction ou la phytostabilisation (Bert et al. 2013 ; Nsanganwimana et al. 2014).

Lors de la phytodégradation, les contaminants organiques sont métabolisés ou minéralisés à l'intérieur des cellules végétales par des enzymes spécifiques, notamment des nitroréductases (dégradation des composés nitroaromatiques), des déshalogénases (dégradation des solvants chlorés et des pesticides) et des laccases (dégradation des anilines) (Favas et al. 2014; Nebeská et al. 2021).

Lors de la rhizodégradation, la dégradation des polluants organiques se fait grâce à l'activité de microorganismes présents dans l'environnement des racines, la rhizosphère. L'efficacité de cette méthode dépend donc de l'importance de la vie microbienne présente au sein de l'appareil racinaire. La plante fournit la source de carbone nécessaire à la croissance de la microflore rhizosphérique via son exsudation racinaire et permet l'aération du sol (Bert et al. 2013) (Figure 7).

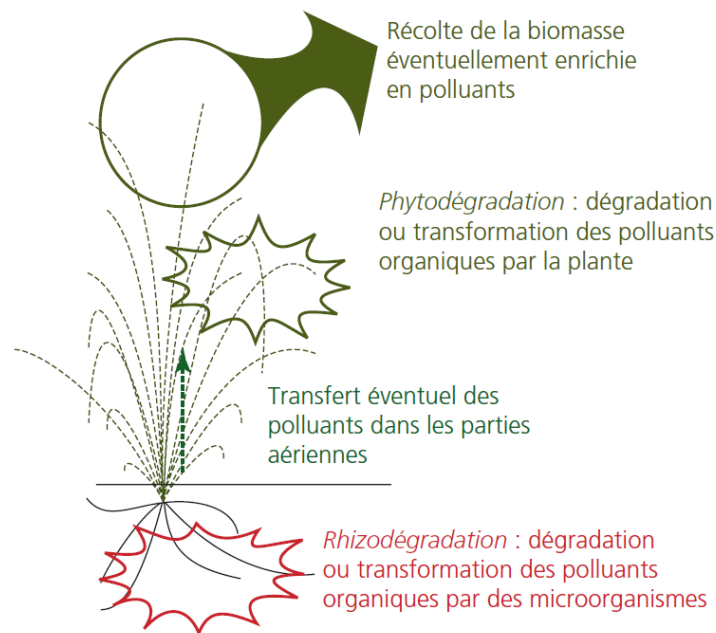


Figure 7 : Fonctionnement de la phyto / rhizo dégradation (Bert et al. 2013)

IV.3. Mise en place de la phytoremédiation

Avant le début de tout projet de réhabilitation, chaque site doit subir une évaluation environnementale pour déterminer la nature, l'étendue et la concentration des contaminants qu'on y retrouve. Le site doit parfois aussi être préparé : défrichement et/ou déboisement éventuels, désherbage, aplanissement. Des amendements peuvent être utilisés afin d'augmenter les performances de la phytodégradation. On parle alors de phytodégradation aidée ou assistée. Ils peuvent être de deux types : des amendements chimiques pour faciliter l'installation des plantes (Mench et al. 2010) ou des amendements biologiques (bactéries, champignons mycorhiziens) pour améliorer la capacité de dégradation directe ou pour favoriser le développement et la résistance des plantes (Göhre and Paszkowski 2006; Glick 2010; Hénault-Ethier 2016).

Ensuite, le choix des espèces végétales est essentiel et doit être adapté au site et à sa pollution. Il faudra sélectionner des plantes qui ont des qualités exceptionnelles pour tolérer et concentrer des polluants qui seraient normalement toxiques pour d'autres types de plantes. Elles doivent aussi être capables de dégrader les polluants organiques (Hénault-Ethier 2016).

Les plantes utilisées peuvent être des plantes herbacées, des arbustes ou des arbres.

La gestion durable des sites contaminés nécessite l'utilisation de cultures non alimentaires à valeur économique. Leur production de biomasse devrait remplacer les matières carbonées non renouvelables et favoriser la séquestration du carbone et d'autres services écosystémiques tels que l'amélioration de la qualité des sols et de l'eau, la réduction de l'érosion et l'augmentation des niches pour la biodiversité (Evangelou et al. 2012; Nsanganwimana et al. 2014). La phytostabilisation et la phyto-rhizodégradation nécessitent une activité végétale pérenne pour minimiser activement les liens entre les polluants et les réservoirs de contaminants labiles dans les sols, optimiser les coûts d'entretien et les apports d'engrais et améliorer les caractéristiques écologiques du site/sol (Mench et al. 2010). Par conséquent, le choix des plantes appropriées implique la prise en compte de leur capacité à produire une biomasse importante, à contenir la contamination du sol, à éviter les risques pour la santé et à fournir des services écosystémiques (Nsanganwimana et al. 2014).

IV.4. Avantages et inconvénients de la phytoremédiation

La phytoremédiation présente de nombreux avantages. La technique est applicable in situ sur de nombreux sols pollués comme les sols agricoles, les friches industrielles et même les sédiments excavés. Elle est compétitive en termes de coût et économe en énergie, se basant uniquement sur l'énergie solaire puisée par la plante. La couverture végétale empêche l'érosion du sol et le ruissellement, limitant ainsi les transferts des polluants. L'utilisation de plantes n'altère pas la structure et la fertilité des sols. Elle peut aussi s'appliquer à de très grandes surfaces, là où il serait difficile de faire intervenir des procédés chimiques ou physiques. Enfin, il s'agit d'une technologie visuellement attractive généralement bien perçue par la population parce qu'en adéquation avec les principes de développement durable (Bert et al. 2013).

La phytoremédiation présente cependant certaines limites. La technique s'applique principalement aux sols de subsurface (c'est-à-dire aux horizons de surface colonisés par les racines soit en moyenne jusqu'à 50 cm de profondeur pour les plantes herbacées et 3 m pour les arbres)(Bert et al. 2013). Elle est souvent limitée à des pollutions peu concentrées car les concentrations élevées en polluants peuvent être rédhibitoires pour les plantes. Le procédé peut être fortement influencé par la météorologie, la fertilité des sols mais aussi par les attaques des insectes, les micro-organismes et les substances phytopathogènes. L'emploi d'une plante bien adaptée à un type de polluant n'est pas toujours possible du fait des caractéristiques agronomiques du terrain. De plus, dans beaucoup de cas, notamment les friches industrielles on retrouve une pollution mixte (Parveen et al. 2021; Alsafran et al. 2022), ce qui est problématique car une plante résistante à un type de polluant n'est pas nécessairement résistante à un autre type de polluant alors qu'ils sont tous les deux présents dans le sol. Enfin la dépollution exige parfois plusieurs années. Cependant, la durée, qui peut apparaître comme une contrainte, pourrait être compensée par la valorisation économique de la biomasse produite ou la valorisation économique (aménagement paysager, restauration des services écosystémiques) (Bert et al. 2013)

V. Le Miscanthus

V.1. Description et taxonomie

Le *Miscanthus* Le genre *Miscanthus* comprend des graminées C4 pérennes, ligneuses, rhizomateuses, ressemblant à des bambous, originaires des régions tropicales et subtropicales d'Asie et d'Afrique du Sud-Est (Lewandowski et al. 2000; Chung and Kim 2012; Mazziotti 2017). Il appartient à la famille des Poaceae, sous-famille des Panicoidae, tribu des Andropogoneae et sous-tribu des Saccharineae (Chou 2009). Le *Miscanthus* vit généralement de 18 à 20 ans, voire jusqu'à 25 ans. La hauteur des plantes de *Miscanthus* varie de 1 à 7 m en fonction des différentes espèces et des conditions de croissance (Congpeng et al. 2021). Il existe environ 20 espèces différentes de *Miscanthus* (Pidlisnyuk et al. 2014). Le *Miscanthus* est capable de pousser sous différents climats, des régions tropicales aux régions tempérées, et peut s'adapter à un large éventail de conditions pédologiques, y compris les terres marginales (Nsanganwimana et al. 2014). Avec des racines bien développées et des rhizomes souterrains, le *Miscanthus* a la capacité d'absorber l'azote et l'eau du sol profond (Neukirchen et al. 1999). Il est établi que le *Miscanthus* peut maintenir une croissance normale dans un sol pauvre avec une faible disponibilité d'azote (N), de phosphore (P) et de potassium (K) (Winkler et al. 2020). En outre, le *Miscanthus* présente une excellente tolérance à la sécheresse, à la chaleur, au froid, au sel et aux stress alcalins, ainsi qu'une large résistance à une variété de maladies et d'insectes (Congpeng et al. 2021) (Figure 8).



Figure 8 : Photo d'une culture de *Miscanthus x giganteus* (Anderson et al. 2011)

V.2. Le *Miscanthus* en phytoremédiation

Le *Miscanthus* Au cours de la dernière décennie, le *Miscanthus* a suscité un intérêt croissant dans le monde entier en tant que culture prometteuse pour la production de biomasse énergétique. Grâce à sa capacité à accumuler des ETM dans les racines, à limiter le transfert d'ETM vers les pousses, à promouvoir la dégradation des xénobiotiques organiques et à améliorer la qualité du sol dans les sites contaminés, le *Miscanthus* est une culture appropriée pour combiner la production de biomasse et la restauration écologique des terres contaminées et marginales. Parmi les espèces de *Miscanthus*, en raison de son caractère non invasif et de sa production de biomasse plus élevée, *Miscanthus x giganteus* semble être une espèce pertinente pour réduire les risques pour l'homme et l'environnement et, par conséquent, une option appropriée pour la gestion phytosanitaire des sites contaminés (Nsanganwimana et al. 2014).

V.3. Ecologie

Le *Miscanthus x giganteus* utilisé pour l'expérimentation dans le cadre de notre travail est un hybride stérile triploïde entre *Miscanthus sacchariflorus* (diploïde) et *Miscanthus sinensis* (tétraploïde) (Linde-Laursen 2004; Mazziotti 2017). Depuis les années 1980, sa culture s'est étendue en Europe car elle est étudiée en tant que plante potentiellement bioénergétique (Chung and Kim 2012). Le *Miscanthus x giganteus* possède un métabolisme photosynthétique de type C4 ce qui lui procure l'avantage d'avoir un meilleur rendement que les plantes en C3 car il utilise de façon plus efficace les radiations en convertissant 40 % fois mieux l'énergie solaire en biomasse mais aussi en utilisant plus efficacement l'eau et l'azote (Beale et al. 1999; Lewandowski et al. 2000; Chung and Kim 2012). Cependant, les plantes en C4 nécessitent des températures plus chaudes que les plantes en C3 pour initier la croissance des pousses, ce qui n'est pas le cas de *Miscanthus x giganteus*. En effet, son mécanisme photosynthétique apparaît plus adapté aux faibles températures que les autres plantes en C4 lui permettant d'obtenir une bonne productivité, même sous des températures plus basses, grâce au maintien de son haut taux de photosynthèse (Wang et al. 2008). Ceci pourrait être expliqué par le fait que *Miscanthus sacchariflorus* a fourni au génome de *Miscanthus x giganteus* une adaptation aux climats chauds alors que *Miscanthus sinensis* lui a fourni des ressources génétiques pour les régions plus froides (Jørgensen 1997).

Par son hybridation, *Miscanthus x giganteus* ne produit pas de semences viables et ne se reproduit que par voie végétative, c'est-à-dire par division des rhizomes (Lewandowski et al. 2000 ; Heaton et al. 2010). La

plantation idéale correspond à la période de mars à avril lorsque le risque de fortes gelées est passé. La croissance et la distribution du *Miscanthus* peuvent être limitées par des conditions hivernales difficiles, et la productivité est faible dans les environnements secs (Mazziotti 2017). Les températures négatives du sol sont généralement létales (jusqu'à 50 %) pour *Miscanthus x giganteus*. Dans ces conditions, on observe un faible taux de survie des plantations de *Miscanthus* de première année, mais les plantes qui survivent au premier hiver poussent bien (100 % du taux de survie) la saison suivante (Nsanganwimana et al. 2014). Lorsque des rhizomes sont plantés, les pousses émergent au début du printemps lorsque les températures du sol varient entre 6 et 10°C (Heaton et al. 2010). La biomasse s'accumule rapidement pendant l'été avec un pic autour de septembre (Beale and Long 1997). Selon le développement de la culture, les plants sont récoltés annuellement après 2 ou 3 ans d'implantation car la production de la biomasse, la première année, n'est pas assez importante (Gauthier and Somer 2013). La récolte est généralement réalisée après la période de sénescence en automne lorsque les plants sont secs et les éléments nutritifs remobilisés vers le rhizome (Beale and Long 1997; Heaton et al. 2010). Pendant l'installation de la culture, le *Miscanthus* est très sensible à la concurrence des adventices qui doivent être désherbées chimiquement ou mécaniquement. Ensuite, la culture prend de la hauteur et la densité du couvert étouffe efficacement les adventices, nécessitant peu de désherbage sur l'ensemble de la durée de son cycle (Nsanganwimana et al. 2014 ; Parc naturel Burdinale Mehaigne 2021).

V.4. Potentiel et avantages du *Miscanthus*

L'herbe pérenne *Miscanthus x giganteus* est considérée comme une plante candidate appropriée pour coupler la gestion des terres contaminées par les métaux et la production de biomasse (Nsanganwimana et al. 2014).

En effet, le *Miscanthus* présente de nombreux avantages, tels qu'une culture pérenne, une productivité élevée, de grandes quantités de biomasse (20~35 t/ha) (Pidlisnyuk et al. 2014), et une résistance élevée à de nombreux métaux lourds (Congpeng et al. 2021). Cette culture est donc parfaitement adaptée aux terres marginales (Winkler et al. 2020).

La nature pérenne de la culture fournit de multiples services écosystémiques notamment le stockage du carbone, l'amélioration des propriétés physico-chimiques des sols, la réduction de l'érosion et la prévention du lessivage des nutriments dans les masses d'eau (Congpeng et al. 2021).

En effet, la couverture permanente du sol réduit l'érosion du sol et le lessivage des nutriments, ce qui entraîne une réduction substantielle des nutriments qui s'écoulent dans les rivières et les plans d'eau protégeant ainsi les écosystèmes aquatiques de l'altération due à l'eutrophisation (Winkler et al. 2020).

Ensuite, le potentiel de stockage du carbone du *Miscanthus* est considérable, en raison de sa longue période de culture. Ainsi, la culture du *Miscanthus* sur une période de 20 ans peut augmenter de manière significative la fertilité du sol, contribuant à améliorer les sols épuisés et marginaux (Winkler et al. 2020).

Enfin, le *Miscanthus* a la capacité d'absorber et de fixer les métaux lourds et d'éliminer les polluants organiques. Il peut supporter les pollutions du sol causées par divers métaux lourds et survivre dans une variété de conditions environnementales défavorables. Par conséquent, il a également des applications potentielles dans la remédiation écologique des sols contaminés et la récupération des sols pollués et des ressources en eau. *Miscanthus x giganteus* peut pousser normalement sur des sols fortement contaminés par le cuivre (Cu), l'arsenic (As) et le zinc (Zn). Plusieurs caractéristiques spécifiques se distinguent par l'excellente tolérance aux métaux lourds du *Miscanthus* : Il peut tolérer de fortes concentrations d'un seul métal lourd ainsi que des pollutions mixtes. Le *Miscanthus* a une capacité d'absorption et de transport relativement forte pour le Zn, l'As, le plomb (Pb), et le chrome (Cr). Par exemple, le *Miscanthus* pourrait éliminer jusqu'à 97,7% de l'As dans le sol, 86,4% du Cu, 77,5% du Pb, 61,0% du Ni, 56,2% du Cd et 42,9% du

Zn dans certaines conditions (Congpeng et al. 2021). En général, les ETM sont accumulés davantage dans les organes souterrains que dans les organes aériens du *Miscanthus*. Les concentrations d'éléments traces dans les organes dépendent d'un élément donné, mais elles se produisent généralement dans l'ordre décroissant : racines > rhizomes > tiges et feuilles. L'arsenic, le Cr, le Pb et le Zn sont plus accumulés dans les feuilles que dans les tiges, alors que l'inverse est vrai pour le Cd. La saison et l'âge de la plantation influencent l'accumulation d'éléments nutritifs dans les espèces de *Miscanthus* (Nsanganwimana et al. 2015 ; Jiang et al. 2018 ; Congpeng et al. 2021).

V.5. Points négatifs du *Miscanthus*

La culture du *Miscanthus* peut présenter quelques points négatifs : le couvert particulièrement dense exerce une concurrence importante sur les adventices qui ne peuvent se développer, ce qui la rend certes peu gourmande en herbicides mais en fait un milieu pauvre en ressources nutritives (pas de graines notamment) et donc en biodiversité biologique par rapport à des prairies permanentes ou des haies.

De plus, à l'automne, le *Miscanthus* perd ses feuilles. Au moment de la sénescence, il produit naturellement de l'ABA, une hormone qui conditionne le processus d'autophagie et de remobilisation des réserves vers le rhizome. Cependant, il reste à déterminer si les métaux lourds présents dans la plante sont également remobilisés vers les rhizomes. En effet, si ceux-ci sont transloqués vers les parties aériennes mais ne retournent pas vers les rhizomes, ils se retrouveront alors à la surface du sol lorsque les feuilles tombent.

Enfin, Le *Miscanthus x giganteus* pourrait avoir un potentiel invasif encore mal connu. En effet, il est issu d'un parent réputé pour son caractère envahissant, *Miscanthus sinensis*. Enfin, de par sa hauteur et son opacité, le *Miscanthus* peut avoir un impact visuel conséquent sur le paysage (Parc naturel Burdinale Mehaigne 2021).

V.6. Valorisation de la biomasse du *Miscanthus*

Il existe plusieurs voies d'utilisation énergétique et matérielle de la biomasse de *Miscanthus*. La combustion, la production d'éthanol et la digestion anaérobie sont trois voies énergétiques, tandis que la litière pour animaux et l'intégration dans du béton léger sont des exemples d'utilisations finales. La combustion est actuellement la voie d'utilisation la plus courante en Europe (Winkler et al. 2020). La biomasse du *Miscanthus* est principalement constituée de parois cellulaires végétales, contenant de la cellulose, des hémicelluloses et de la lignine (Congpeng et al. 2021). Son rendement en biomasse, son pouvoir calorifique et sa teneur en cellulose sont relativement élevés par rapport à d'autres cultures bioénergétiques lignocellulosiques, ce qui en fait l'une des matières premières les plus prometteuses pour la production de biocarburants de deuxième génération. Des technologies innovantes permettent la transformation de la biomasse lignocellulosique en chaleur, biocarburants, électricité (Nsanganwimana et al. 2014). La combustion pourrait néanmoins poser un problème en cas de biomasse contaminée. Des mesures devraient alors être prises afin d'éviter que les métaux volatils ne repassent au niveau de l'atmosphère.

En agriculture, les cannes de *Miscanthus* peuvent servir de support aux plantes ornementales en pot et sa paille est utilisée pour le paillage du sol afin de retenir l'humidité du sol, d'inhiber la croissance des mauvaises herbes et de prévenir l'érosion superficielle (Fowler et al. 2003).

La paille de *Miscanthus* est également utilisée comme litière pour les volailles, les bovins, les porcs, les chevaux et les animaux de compagnie. Enfin, le *Miscanthus* est utilisé comme matériau de chaume depuis des siècles au Japon (Stewart et al. 2009).

Objectifs du mémoire

Le but de ce travail est d'étudier le comportement physiologique de plantes de *Miscanthus x giganteus* poussant sur un sol contaminé, en comparaison avec celui de plantes poussant sur un sol non contaminé. Nous exploiterons un site contaminé par des métaux lourds sur lequel deux parcelles ont été installées : une parcelle brute et une parcelle où un apport de sol propre non contaminé a été effectué. Du *Miscanthus* a été planté sur ces deux parcelles 3 ans avant l'expérimentation, en 2020.

- 1) La première étape du travail consiste en une analyse des sols permettant de préciser l'ensemble de leurs propriétés physico-chimiques ainsi que la teneur et la biodisponibilité des métaux lourds.
- 2) Ensuite, le suivi des plantes en cours de culture permettra de voir les conséquences de l'absorption des métaux lourds sur les cinétiques de croissance, la morphologie, les propriétés photosynthétiques et le statut hydrique des plantes.
- 3) La récolte et l'analyse des organes d'échantillons de 3 plantes par sol à différents stades de croissance permettra de vérifier si les métaux lourds sont absorbés et transportés vers les parties aériennes et si l'absorption et la distribution varient en fonction de ces stades et des organes.
- 4) Enfin, la récolte des feuilles et tiges sénescents déterminera la pollution de la biomasse dans le but d'une utilisation possible de cette biomasse. Des échantillons de rhizomes seront également prélevés à ce stade afin de vérifier une éventuelle translocation des polluants depuis les parties aériennes.

Matériel et méthodes

I. Site d'expérimentation et implantation du *Miscanthus*

Les expériences ont été conduites sur des plantes de *Miscanthus x giganteus* sur un site situé rue Sous les Vignes à Sclessin, près de Liège (coordonnées GPS : 50°37'02.5"N, 5°32'21.3"E). Ce site est une friche industrielle appartenant à la société Duferco, partiellement recolonisée par des bouleaux et présentant des niveaux élevés de métaux lourds. Le site de Chimeuse Est a été divisé en plusieurs zones distinctes pour l'expérimentation, comprenant une zone clairière (L) avec les parcelles L1 à L7 et une zone recolonisée (R) avec les parcelles R1 à R5. Une sonde HOBO a été placée sur le terrain pour enregistrer en continu les conditions météorologiques, pendant toute la durée de l'expérience. Les données collectées par cette sonde sont présentées en annexe 1.

Les *Miscanthus* ont été implantés de la fin juin à la mi-juillet 2020 par l'ASBL PROMISC. Les plants, développés à partir de rhizomes en pots, ont été disposés par deux tous les mètres le long de chaque ligne de plantation, chaque ligne étant elle-même espacée d'un mètre. En amont, l'ASBL a préparé le sol : des aménagements tels que la coupe d'arbres, le débroussaillage et le désherbage ont été entrepris au printemps 2020 sur une zone de 200 m². L'ameublissement a été effectué sur une profondeur d'environ 30-40 cm, avec enlèvement des plus gros blocs et cailloux.

Le sol brut a été utilisé tel quel pour les parcelles R1, R2, L1 et L2. Le sol amendé a été préparé en incorporant une part de compost de déchets verts BEP pour trois parts de sol brut, appliqué aux parcelles R3, R4, R5, L3, L4 et L5. Enfin, un néosol a été mis en place, formant un tumulus de 70 cm de haut et 75 cm de large en plateau, permettant la plantation en double ligne sur L6 et L7. Dans chaque zone et pour les différentes modalités de sol (sol brut, amendé avec compost et néosol), une ligne spécifique a reçu un apport de PURLife liquide (biostimulant à base de vermicompost) entre le 15 juillet et le 15 septembre 2020. Les parcelles R1, R4, L2, L5 et L6 ont ainsi bénéficié de cet apport. Toutefois, lors de mon expérimentation, je n'ai pas analysé les plants sur ces lignes et ce paramètre d'amendement ne sera pas pris en considération dans le cadre du présent travail (Promisc 2020) (Figure 9 et 10).



Figure 9 : Photos de la culture de *Miscanthus x giganteus*, montrant les plants de L7 à gauche jusqu'à L1 à droite (a) prise en août 2020, lors de l'implantation, (b) prise en août 2023



Duferco

PROMISCO

Implantation Miscanthus

Essai Duferco

Site Chimeuse Est

R1-R2, L1-L2 implantés le 30/06/2020

R3-R4-R5 implantés 07/07/2020

L3-L4-L5 implantés 08/07/2020

L6-L7 implantés 15/07/2020

Zone recolonisée par arbres

env. 15 m

R5	30 X Miscanthus dans sol travaillé sur 30-40 cm + compost
R4	30 X Miscanthus dans sol travaillé sur 30-40 cm + compost + PURLife
R3	30 X Miscanthus dans sol travaillé sur 30-40 cm + compost
R2	30 X Miscanthus dans sol brut travaillé sur 30-40 cm
R1	30 X Miscanthus dans sol brut travaillé sur 30-40 cm + PURLife

L1	40 X Miscanthus dans sol brut travaillé sur 30-40 cm
L2	40 X Miscanthus dans sol brut travaillé sur 30-40 cm + PURLife
L3	40 X Miscanthus dans sol travaillé sur 30-40 cm + compost
L4	40 X Miscanthus dans sol travaillé sur 30-40 cm + compost
L5	40 X Miscanthus dans sol travaillé sur 30-40 cm + compost + PURLife
L6 L7	40 X Miscanthus sur Néosol 70 cm + PURLife 40 X Miscanthus sur Néosol 70 cm

env. 20 m

Zone de clairière gyrobroyée

Figure 10 : Terrain d'expérimentation et plan de l'implantation des Miscanthus en jaune = zone de clairière, en vert foncé = zone recolonisée (Promisc 2020)

II. Analyse du sol

Au début du mois de juillet 2023, 15 échantillons de sol ont été prélevés à la bêche : trois échantillons de néosol, six échantillons de sol amendé (trois en zone de clairière et trois en zone recolonisée) et six échantillons de sol contaminé brut (trois dans chaque zone). Les échantillons ont été séchés dans une étuve ventilée pendant plusieurs semaines. Ils ont ensuite été émiettés et tamisés à 2 mm. Pour certaines analyses, le sol a également été broyé à l'aide d'une machine de broyage.

II.1. pH

L'analyse du pH du sol a pour but de mesurer l'acidité ou l'alcalinité à l'aide d'un pHmètre, en préparant une suspension de sol dans de l'eau déminéralisée ou une solution de KCl. Le pH dans l'eau (pH H₂O) évalue l'acidité active, influencée par les ions H⁺ dissous, reflétant les conditions auxquelles sont exposés les racines et les micro-organismes. En revanche, le pH KCl mesure l'acidité d'échange, liée aux ions Al³⁺ et H⁺ du complexe argilo-humique donnant une idée de l'évolution potentielle du pH du sol sans chaulage (*Figure 11*).

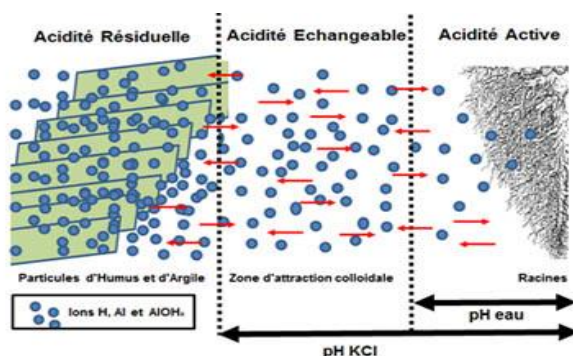


Figure 11 : Relation d'équilibre entre les différents types d'acidité (Brady and Weil, 2008)

Pour le pH H₂O, 5 g de sol sont ajoutés à 25 ml d'eau déminéralisée dans un flacon, agités quatre fois à 20 minutes d'intervalle puis mesurés à l'aide d'une électrode à pH. Pour le pH KCl, 5 g de sol sont mélangés à 25 ml de solution de KCl 1M et agités trois fois à 20 minutes d'intervalle. Le pHmètre est étalonné avec des solutions tampons à pH 4,00 et pH 7,00 avant chaque mesure.

II.2. Humidité relative

L'humidité résiduelle du sol est déterminée par la perte de poids après séchage à 105°C, exprimée par rapport à la fraction fine (< 2 mm) séchée à l'air. Cette mesure est proportionnelle au taux d'argile et de matière organique, et vérifie la qualité du séchage à 40°C. Pour un sol argileux, l'humidité est généralement entre 4 et 8 %, tandis que pour un sol sableux, elle est inférieure à 1 %.

Les échantillons sont d'abord séchés dans un récipient à 105°C, puis placés dans un dessiccateur pour refroidir pendant au moins 45 minutes. Le récipient est pesé avant (M₀) et après ajout de 1 à 1,5 g de sol (M₁). Après séchage à 105°C pendant une nuit (ou jusqu'à masse constante), le récipient est à nouveau refroidi dans un dessiccateur et pesé (M₂).

La teneur en matière sèche est calculée comme suit :

$$W_{MS} = \frac{(M_2 - M_0) \times 100}{(M_1 - M_0)}$$

Et la teneur en eau :

$$W_{H_2O} = \frac{(M1 - M2) \times 100}{(M1 - M0)}$$

Ces analyses permettent de caractériser les propriétés physico-chimiques des sols, fournissant des informations essentielles pour évaluer leur adéquation à la croissance des plantes et comprendre les interactions entre les sols et les métaux lourds présents.

II.3. Rapport Carbone sur Azote

Pour déterminer le rapport carbone/azote (C/N) du sol, 20 à 30 mg des 15 échantillons de sol finement broyé sont pesés dans des cupules en étain. Chaque cupule est repliée pour éliminer l'air et former une boule compacte. Celles-ci sont ensuite placées dans un analyseur élémentaire organique (vario El Cube, Elementar) pour une analyse par combustion sèche selon la méthode de Dumas (1831). Cette méthode implique une combustion complète de la matière organique à 950°C sous un flux d'oxygène, où l'azote est converti en N₂. Les autres produits volatils de la combustion sont piégés, et les gaz résultants sont réduits par du cuivre avant d'être mesurés à l'aide d'un détecteur à conductivité thermique (TCD).

II.4. Capacité d'échange cationique (CEC)

La capacité d'échange cationique (CEC) du sol et la garniture cationique de la CEC constituent des propriétés essentielles de la fertilité du sol. La CEC est une mesure de la capacité du sol à retenir par adsorption des cations nutritifs pour les plantes, tandis que la garniture cationique indique les réserves directement disponibles pour la nutrition végétale.

La méthode utilisée pour déterminer la CEC est celle de Metson (1956), qui implique l'utilisation de l'acétate d'ammonium 1 M à pH 7. Des colonnes sont préparées pour chaque échantillon de sol en utilisant 5 g de sol tamisé, placés entre des couches de sable propre et d'ouate tassée. Le sol est mélangé avec 20 g de sable propre, de manière à obtenir une distribution homogène dans la colonne. Une colonne supplémentaire (blanc) est préparée pour contrôler la contribution du sable ou de l'ouate aux bases échangeables.

Les échantillons sont percolés avec 6 x 25 ml d'acétate d'ammonium pour saturer le sol, puis lavés avec 6 x 50 ml d'éthanol dénaturé pour éliminer l'excès d'ions ammonium. Enfin, les colonnes sont percolées avec 6 x 25 ml de KCl pour désorber le NH₄⁺ retenu et le remplacer par K⁺. La concentration des cations échangeables (Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺) est déterminée par spectrométrie d'émission plasma à couplage inductif (ICP-AES) et celle du NH₄⁺ par électrode spécifique (*Figure 12*).

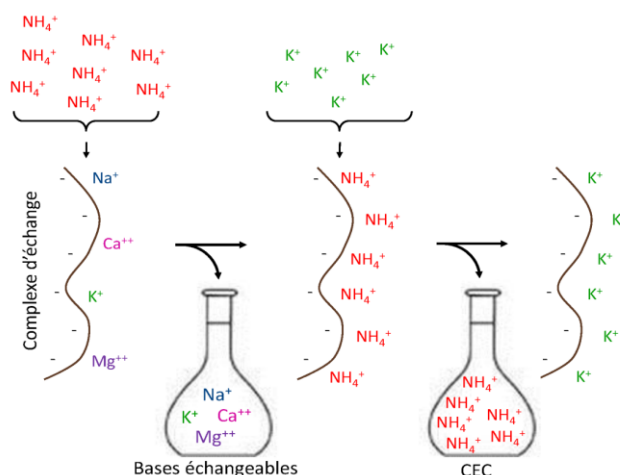


Figure 12 : Principe de la manipulation pour l'estimation de la CEC

II.5. Biodisponibilité

Malheureusement la biodisponibilité des éléments n'a pas pu être évaluée à cause du pH alcalin et des teneurs en carbone très élevées du sol présent sur le terrain (cft résultats sol). Les carbonates contenus dans ce sol auraient faussé les résultats de la manipulation par extraction de CaCl_2 permettant d'estimer la biodisponibilité.

II.6. Extraction et dosage des éléments traces métalliques (ETM)

L'extraction des éléments traces métalliques (ETM) solubles dans l'eau régale, un mélange d'acide chlorhydrique (HCl) et d'acide nitrique (HNO_3), est réalisée selon la méthode d'extraction sous reflux (Figure 13). Cette méthode permet de libérer les éléments métalliques présents dans les sols, les sédiments, les matières utilisées sur ou dans les sols, et les déchets contenant moins de 20 % de carbone. L'échantillon de sol est soumis à l'action de l'eau régale, pendant 16 heures à température ambiante, puis à ébullition avec reflux pendant 2 heures.

Pour ce faire, environ 3g d'échantillon de sol tamisé et humidifié sont insérés dans un ballon à rodage conique de 250 ml. 21 ml d'acide chlorhydrique et 7 ml d'acide nitrique sont ajoutés dans la chambre d'absorption, suivi de 15 ml d'acide nitrique. La chambre d'absorption, le réfrigérant et le ballon sont connectés, et le mélange est laissé reposer pendant 16 heures à température ambiante. La température du mélange est ensuite lentement élevée jusqu'à ébullition avec reflux, et cette température est maintenue pendant 2 heures. Après refroidissement, le contenu de la chambre d'absorption est transvasé dans le ballon à rodage conique en utilisant le réfrigérant, le matériel est rincé avec 10 ml d'acide nitrique. Le mélange est laissé reposer pour permettre la sédimentation des résidus insolubles, puis le surnageant est filtré. Le filtrat est recueilli dans une fiole jaugée de 100 ml et complété au volume avec de l'acide nitrique dilué (0,5 M). Les extraits obtenus sont ensuite analysés par spectrométrie d'émission plasma à couplage inductif (ICP-OES).



Figure 13 : Dispositif d'extraction sous reflux

III. Analyse des *Miscanthus*

III.1. Morpho-physiologique

Trois plants ont été observés sur chacune des trois catégories de sol sans apport de PURLife. Dans la zone de clairière, les parcelles observées étaient L7 (néosol), L3 et L4 combinées (sol amendé), ainsi que L1 (sol brut). Dans la zone de recolonisation, six plants présents sur les parcelles R3 et R5 (sol amendé) et sur le sol brut de R2 ont été sélectionnés aléatoirement pour être étudiés. Rappelons qu'il n'y a pas de néosol pour la parcelle R. Les analyses morphologiques et physiologiques non destructives ont été réalisées trois fois, sur chacun des plants sélectionnés, pendant l'année : une première fois à la fin du printemps/début de l'été les 5, 6 et 7 juillet, en plein été, les 16, 17 et 18 août, ainsi qu'au début de l'automne, les 12 et 13 octobre. Cela a permis d'avoir un suivi temporel de l'état général des *Miscanthus x giganteus* tout au long des saisons.

III.1.1. Croissance des *Miscanthus*

Afin de suivre la croissance des plantes et d'évaluer leur développement 3 paramètres morphologiques sont observés. La hauteur des plants est mesurée à l'aide d'un mètre, en partant de la base de la tige jusqu'au nœud où se trouve la dernière feuille. En outre, le nombre total de feuilles par plant est compté pour obtenir une idée précise de la densité foliaire. Enfin, la longueur des feuilles intermédiaires a été mesurée pour chaque plant afin d'évaluer la croissance et la santé des feuilles. Les mesures ont été standardisées sur des feuilles de même âge physiologique entre les plants de chaque traitement au même stade de croissance. Cependant, il arrivait fréquemment que les feuilles mesurées tombent ou s'abîment en raison du développement des plantes au cours de l'expérimentation. Ainsi, les feuilles sélectionnées différaient entre les différents stades de croissance. J'ai mesuré la 5^{ème} feuille en juillet, la 7^{ème} en août et la 9^{ème} en octobre. Ces mesures morphologiques ont permis de suivre la croissance des plantes et d'évaluer leur développement dans les différents types de sol et conditions de traitement.

III.1.2. Teneur en chlorophylle et température foliaire

Pour évaluer la teneur en chlorophylle et la température foliaire des feuilles des *Miscanthus x giganteus*, j'ai utilisé un appareil PNA. Cet appareil portable permet de mesurer l'absorbance des feuilles à deux longueurs d'onde spécifiques (généralement autour de 650 nm et 940 nm). Le SPAD émet de la lumière sur une petite surface de la feuille et mesure la quantité de lumière transmise et absorbée. La différence entre l'absorbance à ces deux longueurs d'onde est utilisée pour calculer un indice qui est corrélé à la concentration de chlorophylle dans les feuilles. Cette estimation rapide et non destructive de la concentration en chlorophylle reflète l'état de nutrition azotée et la santé globale des plantes. En plus de la teneur en chlorophylle, l'appareil permet également de mesurer la température et l'humidité foliaire, ce qui est essentiel pour évaluer le stress thermique des plantes et leur réponse aux conditions environnementales. (Konica Minolta Optics 2009). Les mesures à l'aide du PNA ont été prises 3 fois par feuilles observées sur chaque plant, une première fois proche de la base de la feuille, puis au centre de celle-ci et enfin la dernière à l'extrémité de la feuille. Comme pour les mesures morphologiques, la 5^{ème} feuille a été analysée en juillet, la 7^{ème} en août et la 9^{ème} en octobre.

III.1.3. Photosynthèse nette, transpiration instantanée, conductance stomatique et concentration en CO₂ intercellulaire

L'efficacité photosynthétique, plus précisément, la photosynthèse nette (A), la transpiration instantanée (E), la conductance stomatique (g_s) et la concentration en CO₂ intercellulaire (C_i) des *Miscanthus* ont été mesurées avec L'Infra Red Gas Analyser (IRGA) (Figure 14). Cet appareil fonctionne en utilisant les principes de l'absorption infrarouge pour analyser les gaz échangés entre les feuilles de la plante et l'atmosphère. Le fonctionnement de l'IRGA repose sur la mesure de la concentration de CO₂ et de la vapeur d'eau dans l'air passant à travers une chambre de mesure contenant la feuille. Pour les *Miscanthus*, une chambre de mesure spéciale graminée en longueur a été utilisée, et l'appareil a été réglé selon ce paramètre. Une partie de la feuille était installée dans l'entièreté de la chambre. L'appareil émet de la lumière infrarouge à travers l'air échantillonné, et les molécules de CO₂ et de vapeur d'eau absorbent des longueurs d'onde spécifiques de cette lumière. L'IRGA mesure la quantité de lumière infrarouge absorbée, ce qui permet de déterminer la concentration des gaz dans l'air (Guru 2021). Ces mesures ont été enregistrées à trois reprises sans déplacer l'appareil sur les 5^{èmes} feuilles en juillet, les 7^{èmes} en août et les 9^{èmes} en octobre de chacun des plants.

III.1.4. Conductance stomatique

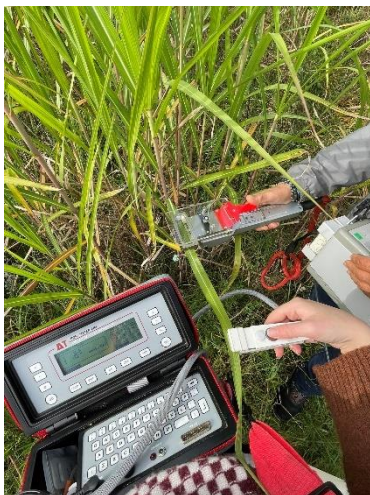


Figure 14 : Prise de mesure avec le poromètre (à gauche) et l'IRGA (à droite) sur une feuille de *Miscanthus*

Enfin la conductance stomatique des feuilles, qui régule les échanges gazeux entre la plante et l'atmosphère, a également été estimée grâce au poromètre (Figure 14). Le poromètre mesure la conductance sur base de la diffusion de la vapeur d'eau à travers les stomates. La chambre de mesure est fixée sur la surface de la feuille, contenant un capteur d'humidité relative. La vapeur d'eau libérée par les stomates crée un gradient d'humidité à l'intérieur de la chambre. Le poromètre mesure cette différence d'humidité relative et calcule la conductance stomatique en surveillant le taux de changement de l'humidité dans la chambre. L'appareil a été calibré préalablement avant chaque analyse selon un standard de porosité. Les mesures ont ensuite été prises 2 fois sur chaque feuille observée (identique à celle de l'IRGA et du PNA)

III.2. Analyse biochimique

Simultanément à la collecte des mesures morphologiques et physiologiques, des feuilles de même âge physiologique ont été prélevées sur trois plants de *Miscanthus* dans chaque traitement. Afin d'empêcher la dégradation des composés biochimiques, les échantillons étaient soumis à une congélation rapide à l'aide de carboglace, permettant leur gel instantané dès leur collecte. Ces échantillons congelés ont ensuite été broyés au mortier et pilon dans de l'azote liquide et stockés dans un congélateur à -80°C, garantissant la préservation de leur état frais pour des analyses futures.

III.2.1. Dosage de la malondialdéhyde (MDA)

Le malondialdéhyde (MDA) est un marqueur de stress oxydatif utilisé pour évaluer les dommages cellulaires causés par les radicaux libres dans les plantes. Le protocole suivi pour doser le MDA est celui de Heath and Packer (1968) (Figure 15).

Pour le dosage du MDA, 0,20 g de feuilles fraîches broyées sont suspendus dans 5 ml de TCA 5% (20 g de TCA dans 395 ml d'eau déminéralisée et 5 ml de glycérol). L'homogénat est centrifugé à 12000 g pendant 10 minutes et à 4°C, puis filtré sur papier Whatman. Les surnageants sont récupérés dans de nouveaux flacons. Pour chaque échantillon, deux séries sont préparées :

- La série (+) où 1 ml de surnageant est ajouté à 1 ml de TBA 0,67%,
- La série (-) où 1 ml de surnageant est ajouté à 1 ml de TCA 5%.

Des blancs sont également réalisés contenant 1ml de TCA et 1ml de TBA ou 2 ml de TCA. Les échantillons des 2 séries et les blancs sont mélangés au vortex puis chauffés au bain-marie à 100°C pendant 30 minutes avec les bouchons ouverts et recouverts de papier aluminium. Ils sont ensuite refroidis sur glace, puis de nouveau centrifugés pendant une minute à 12000 g pour éliminer la turbidité.

L'absorbance est mesurée à 440, 532 et 600 nm.

La concentration en MDA dans la cuvette est calculée selon la loi de Beer-Lambert :

$$Cc = Abs/\epsilon \text{ (mmoles/l)}$$

Où Abs est la différence entre l'absorbance à 532 nm et à 600 nm qui se calcule comme suit :

$$A = Abs_{532+TBA} - Abs_{600+TBA} - (Abs_{532-TBA} - Abs_{600-TBA})$$

$$B = (Abs_{440+TBA} - Abs_{600+TBA}) \times 0.0571B$$

Et ϵ le coefficient d'extinction molaire, pour le complexe MDA-TBA il est de $157 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Afin d'avoir le résultat en (nmol/ml) nous réalisons donc ce calcul :

$$Cc_{MDA} = 1000 \times (A-B) / 157$$

Cette valeur est ensuite multipliée par le volume d'extraction (5 ml) et les éventuelles dilutions, puis divisée par la masse de matière fraîche initiale.

III.2.2. Dosage des pigments, polyphénols, flavonoïdes et glucides

Pour les dosages des pigments, polyphénols, flavonoïdes et glucides dans les échantillons de *Miscanthus x giganteus*, j'ai utilisé le protocole Rainbow, permettant de réaliser ces analyses à partir de la même extraction (López-Hidalgo et al. 2021).

▪ **Extraction**

200mg de chaque échantillon sont extraits avec 4 ml d'éthanol 80% froid, en vortexant vigoureusement. Ceux-ci sont ensuite centrifugés à 10000 g pendant 10 minutes à 4°C. Un millilitre du surnageant est prélevé et dilué deux fois pour le dosage des pigments (Tube A). Le reste du surnageant est transféré dans un autre Eppendorf pour le dosage des sucres, polyphénols et flavonoïdes (Tube B).

▪ **Dosage des pigments**

Les pigments, tels que la chlorophylle et les caroténoïdes, sont essentiels pour la photosynthèse. Pour les quantifier 500 μl du surnageant dilué des tubes A sont prélevés et transférés dans une cuvette spectrophotométrique. Les absorbances sont mesurées à 470, 649 et 664 nm. Les concentrations en pigments se calculent avec les équations suivantes :

$$\text{Chl } a \text{ (}\mu\text{g/ml)} = 13.36 \times A_{664} - 5.19 \times A_{649}$$

$$\text{Chl } b \text{ (}\mu\text{g/ml)} = 27.43 \times A_{649} - 8.12 \times A_{664}$$

$$\text{Caroténoïdes (}\mu\text{g/ml)} = (1000 \times A_{470} - 2.13 \times \text{Chl } a - 97.63 \times \text{Chl } b) / 209$$

▪ **Dosage des polyphénols**

Les polyphénols sont des antioxydants importants qui aident à protéger les plantes contre le stress oxydatif. Ils sont dosés en mettant 200 μl du surnageant B avec 200 μl du réactif de Folin-Ciocalteu et 2,8ml l'eau distillée. Après 3 min, 0,8ml de carbonate de sodium à 20% sont ajoutés au réactif. Les échantillons sont ensuite incubés au bain-marie à 40°C pendant 40 minutes. L'absorbance est mesurée à 760 nm. La teneur en polyphénols est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale.

▪ Dosage des flavonoïdes

Comme le polyphénol, les flavonoïdes sont également des antioxydants. 700 µl de l'extrait B sont mélangés à 700 µl d'une solution d'AlCl₃ à 2%, vortexés vigoureusement, puis incubés 10 minutes à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 440 nm et la teneur en flavonoïdes est exprimée en mg sur base de la courbe d'étalonnage de la quercétine.

▪ Dosage des sucres solubles

Pour les sucres solubles, des indicateurs de la réserve énergétique et de la santé métabolique des plantes, 200 µl de surnageant du tube B sont ajoutés à 1000 µl de solution d'anthrone dans un tube en verre, puis incubés au bain-marie à 100°C pendant 10 minutes. Après refroidissement sur glace, les échantillons sont vortexés, et l'absorbance est mesurée à 625 nm. La teneur en sucres solubles est déterminée à partir d'une courbe étalon de D-glucose.

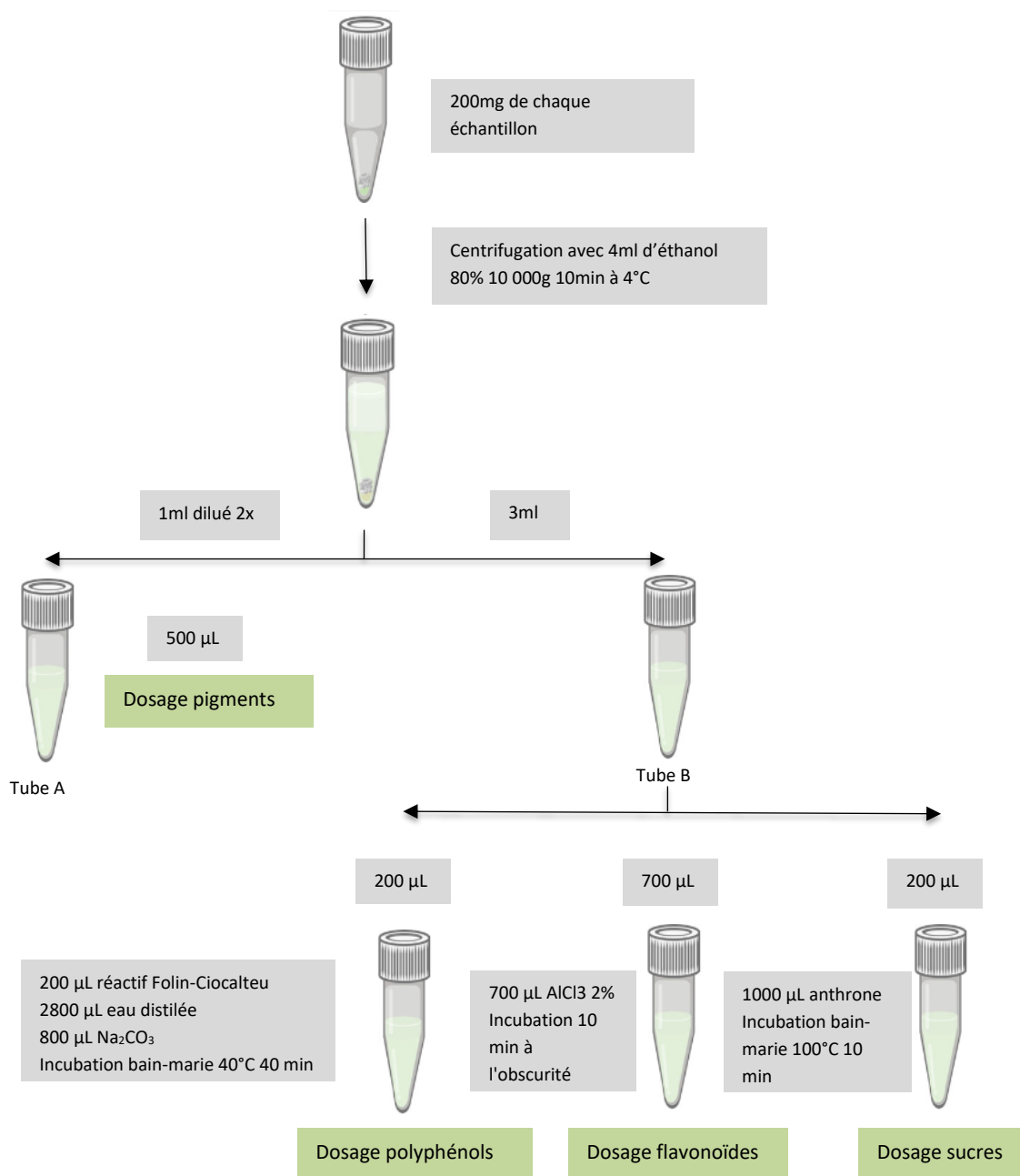


Figure 15 : Récapitulatif de la manipulation Rainbow

III.2.3. Dosage des thiols totaux, du glutathion et des phytochélatines

Les thiols totaux regroupent l'ensemble des composés contenant des groupes sulfhydriles (-SH) dans les plantes, incluant les molécules de glutathion et les phytochélatines. Le glutathion est le principal composé thiol non-protéique (L-γ-glutamyl-L-cystéinyglycine).

Ce tripeptide joue un rôle important dans la protection cellulaire, notamment au niveau de la détoxification des substances xénobiotiques et dans l'anti-oxydation des radicaux libres et des espèces réactives de l'oxygène.

Sous stimulation, comme la présence de métaux lourds (principalement Cd, Zn, Cu et As), le glutathion est utilisé pour produire des phytochélatines (PCs). Les phytochélatines sont des peptides riches en cystéine, dérivés du glutathion, qui jouent un rôle crucial dans la décontamination et la séquestration vacuolaire des métaux lourds. (Hasanuzzaman et al. 2017)

▪ **Dosage des thiols totaux**

Entre 50 et 100 mg de matière fraîche broyée sont ajoutés à 2 ml d'une solution composée de 5 g d'acide sulfosalicylique et 0,2478 g de DTPA (acide diéthylène triamine penta acétique) dans des tubes Eppendorf de 2 ml placés sur glace. Les tubes sont centrifugés pendant 30 minutes à 10000 g à 4°C. Pour chaque échantillon, 300 µl de surnageant sont mélangés à 630 µl de K₂HPO₄ 0,5 M, puis une première absorbance (Abs1) à 412 nm est mesurée au spectrophotomètre. Ensuite, 25 µl d'une solution contenant 0,124 g de DTPA, 1,245 g de K₂HPO₄ et 0,198 g de DTNB (réactif d'Ellman) sont ajoutés aux échantillons. Une deuxième absorbance (Abs2) à 412 nm est mesurée après 2 minutes à température ambiante. La différence entre les absorbances A2 et A1, comparée à une courbe d'étalonnage établie avec la cystéine, permet de déterminer la concentration en thiols par gramme de matière fraîche (De Vos et al. 1992).

▪ **Dosage du glutathion**

Pour extraire le glutathion total (GSht) et le glutathion réduit (GSH) des échantillons, 200 mg de matière fraîche broyée dans l'azote liquide sont utilisés. Pour le GSht, 500 µl de tampon Tris 0,1 M pH 8,5 et 1 ml de DTT 25 mM sont ajoutés, suivi de 30 minutes de réaction. Ensuite, 8 ml de MPA 6% sont ajoutés, le mélange est vortexé et 1 ml est transféré dans un Eppendorf sur glace. Les échantillons sont centrifugés à 10000 g pendant 7 minutes à 4°C. Pour le GSH réduit, 200 mg de matière fraîche broyée sont ajoutés à 4 ml de MPA 6%, vortexés, puis 1 ml est transféré dans un Eppendorf sur glace et centrifugé de la même manière.

Le réactif de dérivation OPA est préparé en dissolvant 50 mg d'OPA dans 500 µl de méthanol HPLC, puis en ajoutant 95 ml de tétraborate de sodium 0,1 M pH 9,9, et stocké à -80°C. Les échantillons sont dilués, puis 100 µl de chaque échantillon sont mélangés à 100 µl d'OPA et incubés 5 minutes à température ambiante. Ensuite, 800 µl de tampon phosphate de sodium 500 mM pH 7 sont ajoutés. Les échantillons sont analysés par HPLC avec une colonne maintenue à 30°C, une température d'échantillon de 5°C, et un débit de 0,7 ml/min. Le gradient d'élution varie de 0% à 70% d'acétonitrile et les résultats sont détectés par fluorescence (excitation à 340 nm et émission à 420 nm).

Les concentrations de GSH et de GSSG sont déterminées en µmol/g à partir des pics de fluorescence, en utilisant des courbes d'étalonnage. La concentration de GSH total est calculée, et celle de GSSG est obtenue en soustrayant le GSH réduit du GSH total et en divisant par deux (Cereser et al. 2001).

▪ Dosage des phytochélatines

Pour évaluer la concentration des phytochélatines, nous utilisons les valeurs des thiols totaux et du glutathion total. La concentration des phytochélatines est obtenue en soustrayant le glutathion total des thiols totaux. Cette méthode permet de quantifier indirectement les phytochélatines, en utilisant les mesures des thiols totaux et du glutathion (Schäfer et al. 1997).

III.3. Dosage des éléments majeurs et traces métalliques (ETM) dans la plante

Comme pour les analyses biochimiques des échantillons de matière végétale, des feuilles, tiges et rhizomes ont été collectés sur trois plants par traitement de sol. Après la récolte, ceux-ci sont placés dans une étuve à 60°C afin d'assurer un séchage complet. Chaque échantillon est ensuite broyé à l'aide d'un broyeur à billes pendant 15 min (30 min pour les rhizomes). Les échantillons de feuilles et de tiges ont été récoltés durant toute la période d'expérimentation (de juillet à octobre), les rhizomes, en revanche, n'ont été collectés qu'une fois en octobre afin d'éviter de trop dégrader la culture. De même, compte tenu de la taille des plantes et de leur ancrage dans le substrat, aucun échantillon représentatif des racines n'a pu être prélevé.

Pour quantifier les éléments majeurs et les éléments traces métalliques (ETM) dans les feuilles, les tiges et les rhizomes des *Miscanthus x giganteus*, un protocole de minéralisation en deux étapes est suivi. Tout d'abord, 50 à 100 mg de matériel sec sont pesés précisément et placés dans une fiole jaugée de 10 ml. Ensuite, 4 ml d'acide nitrique concentré sont ajoutés et les fioles sont placées sur un bain de sable non chauffé pendant une nuit pour dissoudre complètement la matière organique. Le lendemain, les fioles sont chauffées progressivement pour permettre l'évaporation complète de l'acide nitrique une fois la solution devenue incolore.

Dans la deuxième étape, les résidus sont dissous avec de l'eau régale (1,5 ml d'HCl concentré et 0,5 ml d'acide nitrique concentré). Le volume nécessaire de ce mélange est préparé pour l'ensemble des fioles, et 2 ml sont introduits dans chaque fiole. Les fioles sont de nouveau placées quelques minutes sur le bain de sable jusqu'à dissolution complète des résidus. Ensuite, les fioles sont retirées du bain de sable et ajustées au trait avec de l'eau déminéralisée. La solution est filtrée à travers un papier filtre Whatman dans des flacons de 15 ml.

Les échantillons obtenus sont ensuite analysés par spectrométrie d'émission plasma à couplage inductif (ICP-OES Agilent) permettant de quantifier les éléments suivants : Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, S, Sn, Sr, V, et Zn.

IV. Analyse statistique

Les tests statistiques et les graphiques pour illustrer les résultats ont été réalisés avec le logiciel R Studio version 4.4.0. Les données ont majoritairement été analysées au moyen de l'analyse de la variance (ANOVA) à un facteur pour les analyses de sol et à deux ou trois facteurs pour les analyses de *Miscanthus*, en fonction des traitements, des stades de croissance et des organes lorsqu'ils sont applicables. Pour comparer les différents niveaux des variables explicatives, j'ai appliqué la méthode des "estimated marginal means" (emmeans) et des comparaisons multiples "pairwise" sur la base du test de Tukey (p-valeur < 0.05). En cas de non-respect des conditions d'application, une transformation logarithmique a été appliquée. Si, malgré celle-ci, les conditions de normalité et d'hétéroscédasticité n'étaient toujours pas vérifiées, des tests non paramétriques de Kruskal-Wallis et de Wilcoxon ont été réalisés.

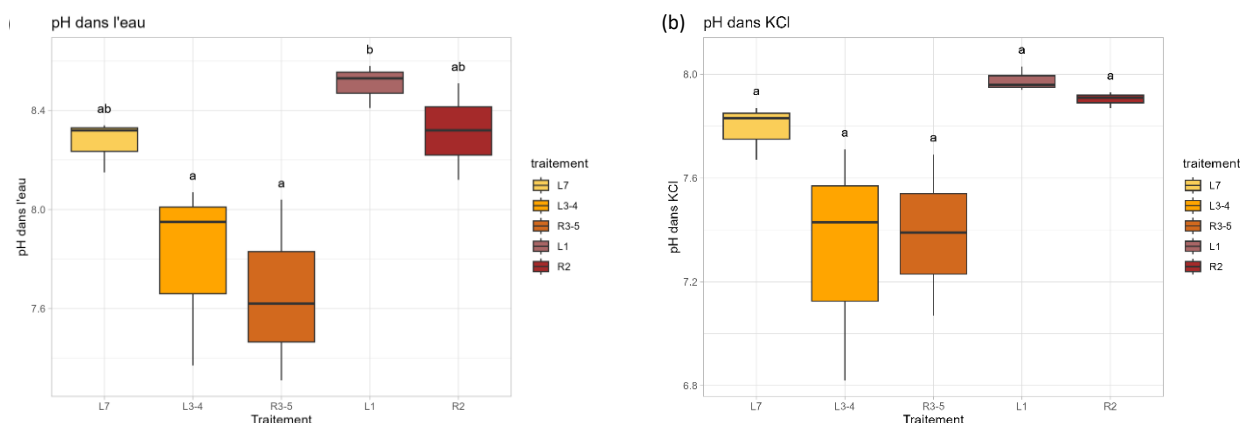
Résultats

I. Résultats des analyses de sol

I.1. pH

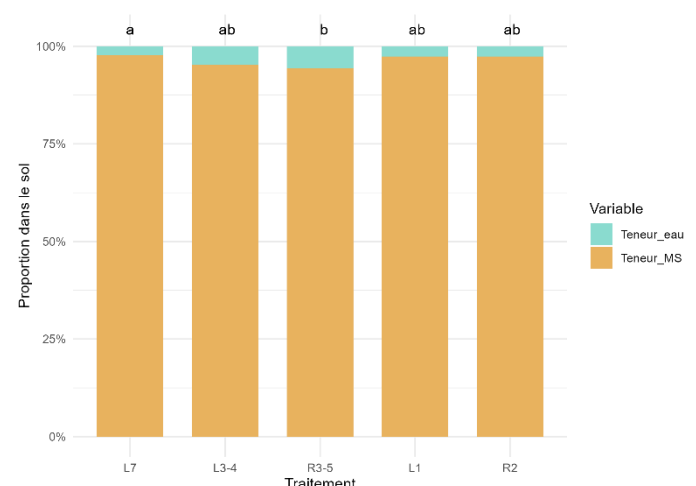
L'analyse du pH dans l'eau indique que le sol de notre site expérimental est basique (entre 7,5 et 8) voire très basique (supérieur à 8) selon les traitements. En effet, nous pouvons observer des variations significatives entre certains traitements. En particulier, les sols amendés avec du compost présentent un pH significativement plus bas par rapport au sol brut en zone clairière (L1) ($p = 0.0436$ et 0.0156). Une tendance notable est également observée entre les sols amendés et le néosol (L7) ainsi que le sol brut en zone recolonisée (R2).

Le pH mesuré dans une solution de KCl reflète mieux l'acidité "potentielle" du sol, c'est-à-dire sa capacité à devenir plus acide, par rapport au pH eau qui ne mesure que l'acidité "active" présente au moment du test. Le pH KCl est donc naturellement plus faible que le pH eau. Aucune différence significative n'a été observée entre les traitements pour cette mesure. Cependant, des tendances semblables à celle du pH dans l'eau ont été notées entre les traitements L3-4 et R3-5 par rapport aux 3 autres, particulièrement avec L1 où les p-valeurs frôlent le seuil de significativité statistique ($p = 0.0584$ et 0.0938). Cela suggère que des différences pourraient émerger avec un échantillon plus grand ou des conditions expérimentales légèrement différentes (Figure 16).



I.2. Humidité relative

La figure 17 nous renseigne sur les teneurs en eau contenue dans les différents traitements du sol. Le néosol (L7) présente une teneur en eau significativement plus basse par rapport au traitement R3-5 ($p = 0.0228$). De façon générale, les sols enrichis avec du compost ont tendance à mieux retenir l'eau par rapport aux autres sols présents sur le site. En effet, le sol L3-4 contient 4,85% d'eau et celui en R3-4 a une teneur en eau de 5,58% alors que les sols L7, L1 et R2 ne contiennent que respectivement 2,19%, 2,60% et 2,63%.



I.3. Rapport Carbone sur Azote

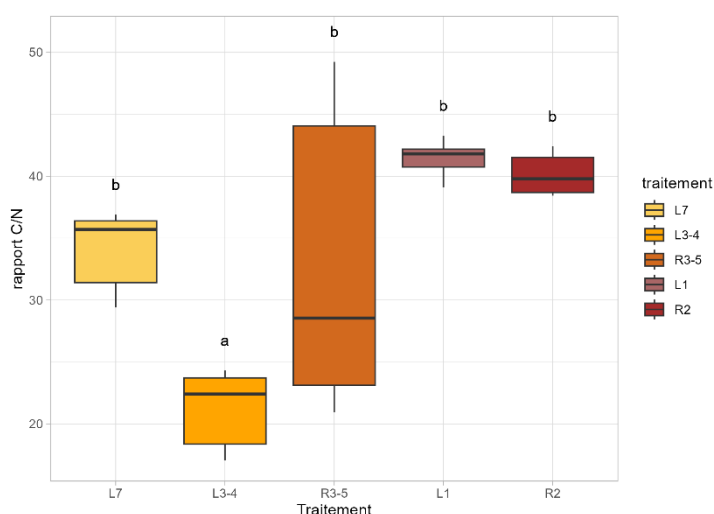


Figure 18 : Rapport entre le carbone et l'azote dans les sols des différents traitements : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 6 répliques par traitement. Testé en Anova 1 où $p\text{-val} < 0,05$

Le rapport C/N est une mesure clé de la qualité du sol, influençant la décomposition de la matière organique et la disponibilité des nutriments. Un rapport C/N élevé (> 30) indique généralement une lente décomposition de la matière organique, tandis qu'un rapport faible (< 20) suggère une décomposition rapide et une potentielle libération rapide d'azote minéral.

Les résultats montrent que le traitement L3-4 a un ratio C/N significativement plus bas comparé aux autres traitements ($p < 0.0001$), ce qui pourrait indiquer une décomposition plus rapide de la matière organique. La médiane des échantillons du sol R3-5 montre que le rapport C/N est également plus faible

comparé aux autres traitements (surtout L1 et R2). Cependant on observe une grande variabilité au sein de ce sol ce qui diminue la puissance statistique de l'Anova (Figure 18).

I.4. Bases échangeables et capacité d'échange cationique (CEC)

Les résultats montrent que les traitements des sols amendés avec du compost présentent des concentrations de bases échangeables et une capacité d'échange cationique (CEC) plus élevées par rapport aux autres traitements. En particulier, le sol des lignes 3 et 5 en zone recolonisée montre une augmentation significative du calcium échangeable. Ce traitement affiche également la somme des bases échangeables (Ca, K, Mg, Na) la plus élevée, indiquant une meilleure capacité de ce sol à retenir et fournir des nutriments essentiels aux plantes.

Le sol amendé des lignes 3 et 4 en zone de clairière présente une concentration de potassium échangeable significativement plus élevée par rapport aux autres traitements. Le magnésium échangeable semble également être plus élevé dans ce traitement, bien que la différence ne soit pas statistiquement significative.

La CEC est très élevée dans les sols amendés, atteignant en moyenne 35,8 cmolc/kg sur les lignes L3-4 et 26,3 cmolc/kg en R3-5. Les plantes situées sur le néosol (L7) ont les concentrations les plus faibles de bases échangeables et de CEC par rapport aux autres traitements. Cependant, ces valeurs restent correctes par rapport aux normes, avec une moyenne de 35,5 cmolc/kg de bases échangeables et 12,6 cmolc/kg pour la CEC. De plus, la différence entre le néosol (L7) et les sols contaminés bruts n'est pas statistiquement significative (Figure 19).

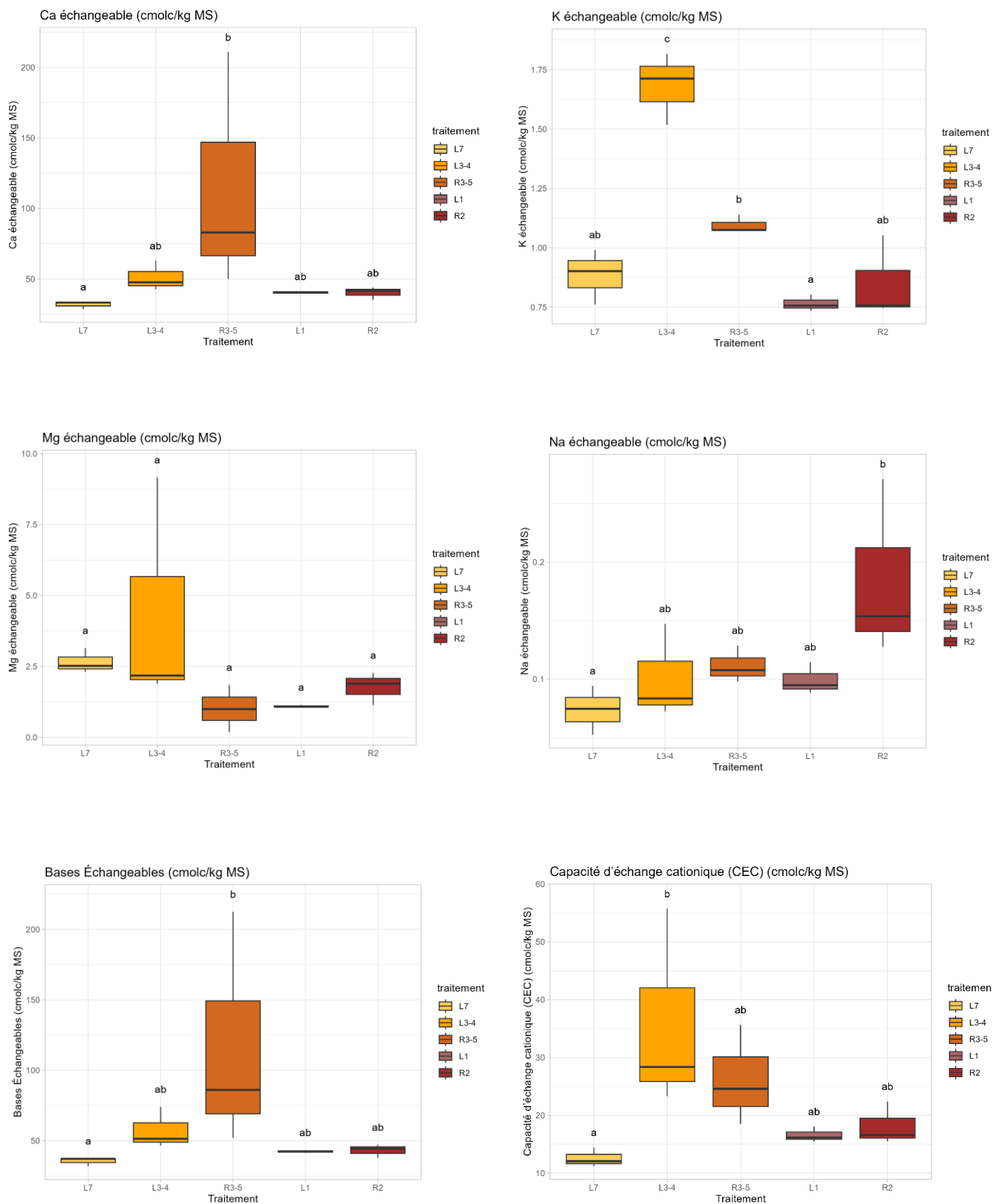


Figure 19 : Mesure (a) du calcium échangeable, (b) du potassium échangeable, (c) du magnésium échangeable, (d) du sodium échangeable, (e) des bases échangeables (représentant le total du Ca + K + Mg + Na) et (f) de la capacité d'échange cationique (CEC) dans les sols des différents traitements : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où $p\text{-val} < 0,05$

I.5. Dosage des éléments majeurs et des éléments traces métalliques (ETM)

Les analyses statistiques n'ont pas révélé des concentrations d'éléments majeurs et métalliques significativement différentes entre les traitements. Mais cela peut s'expliquer par le faible échantillonnage et la forte variabilité au sein des échantillons, due à l'hétérogénéité des contaminations au sein des sols. Cependant les concentrations des éléments majeurs et des éléments traces métalliques (ETM) dans les différents sols montrent des tendances intéressantes.

En ce qui concerne les éléments essentiels, les graphiques montrent des variations entre les traitements, bien que ces différences ne soient pas statistiquement significatives. Le néosol semble présenter des niveaux plus équilibrés d'éléments essentiels comparés aux sols contaminés, ce qui pourrait être bénéfique pour la croissance des plantes. Les concentrations de calcium (Ca), de potassium (K), de magnésium (Mg) et de manganèse (Mn) présentent des taux plus élevés dans le néosol par rapport aux autres sols de l'expérimentation. Le sol amendé R3-5 présente les plus faibles taux de potassium, de magnésium et de phosphore (*Figure 20 et 21*).

Les sols contaminés analysés montrent des niveaux élevés de métaux lourds, particulièrement de plomb, zinc et arsenic, dépassant les valeurs seuils fixées par la région Wallonne (Tableau 2). Les sols présentant les plus hauts taux de contamination sont L1 et R3-5. En particulier, le sol R3-5 où on retrouve une concentration moyenne de plomb (Pb) dépassant les 1000 mg/kg, ce qui est alarmant. L'arsenic est également présent à des niveaux considérables dans ces deux sols, avec des valeurs avoisinant les 150 mg/kg, soit trois fois supérieures à la valeur seuil autorisée en zone industrielle. Même dans le néosol, les teneurs en arsenic sont préoccupantes, se rapprochant de la limite fixée par le décret sur les sols en Wallonie. On observe aussi des concentrations importantes de cuivre (Cu) dans les échantillons R3-5. Le cadmium, mesuré entre 3 et 6 mg/kg dans les sols contaminés, représente également un danger car, à ces concentrations, il peut déjà induire des effets toxiques sur les plantes (*Figure 20 et 22 ; Tableau 2*).

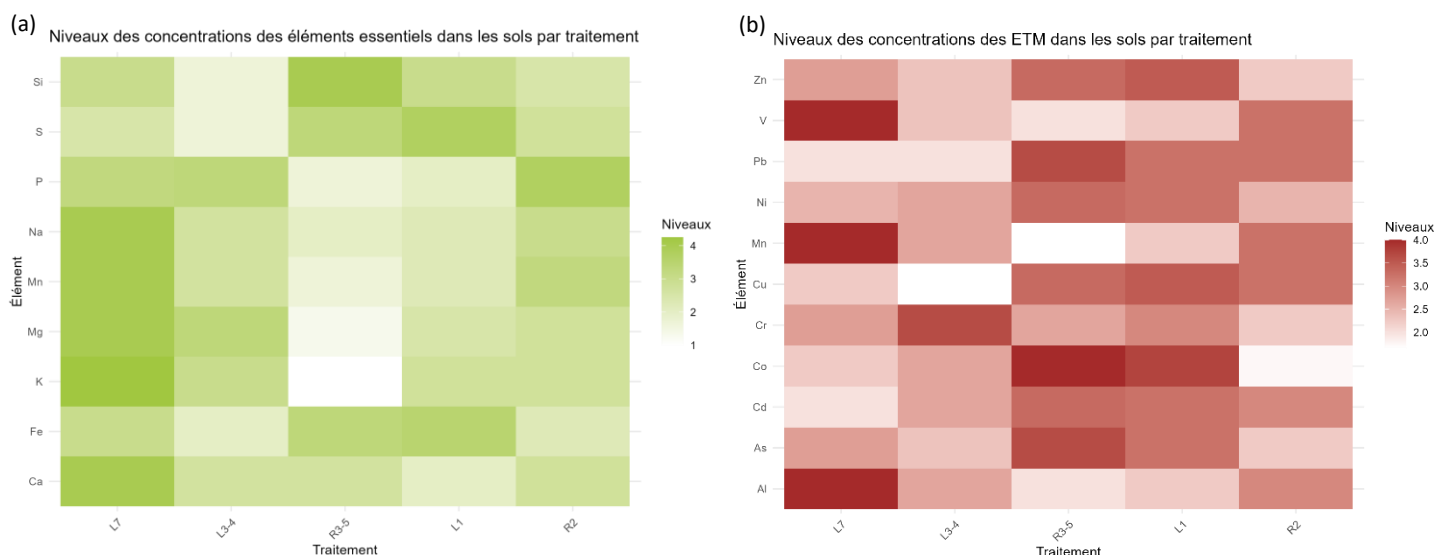


Figure 20 : Comparaison des niveaux de concentration (a) des éléments essentiels et (b) des éléments traces métalliques (ETM) dans les sols selon les différents traitements : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Les couleurs claires (niveaux 1 et 2) représentent les taux les plus faibles de concentration parmi tous les traitements et les couleurs plus foncées (niveaux 3 et 4) indiquent des taux élevés de cet élément en comparaison aux autres valeurs observées. Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où $p\text{-val} < 0,05$

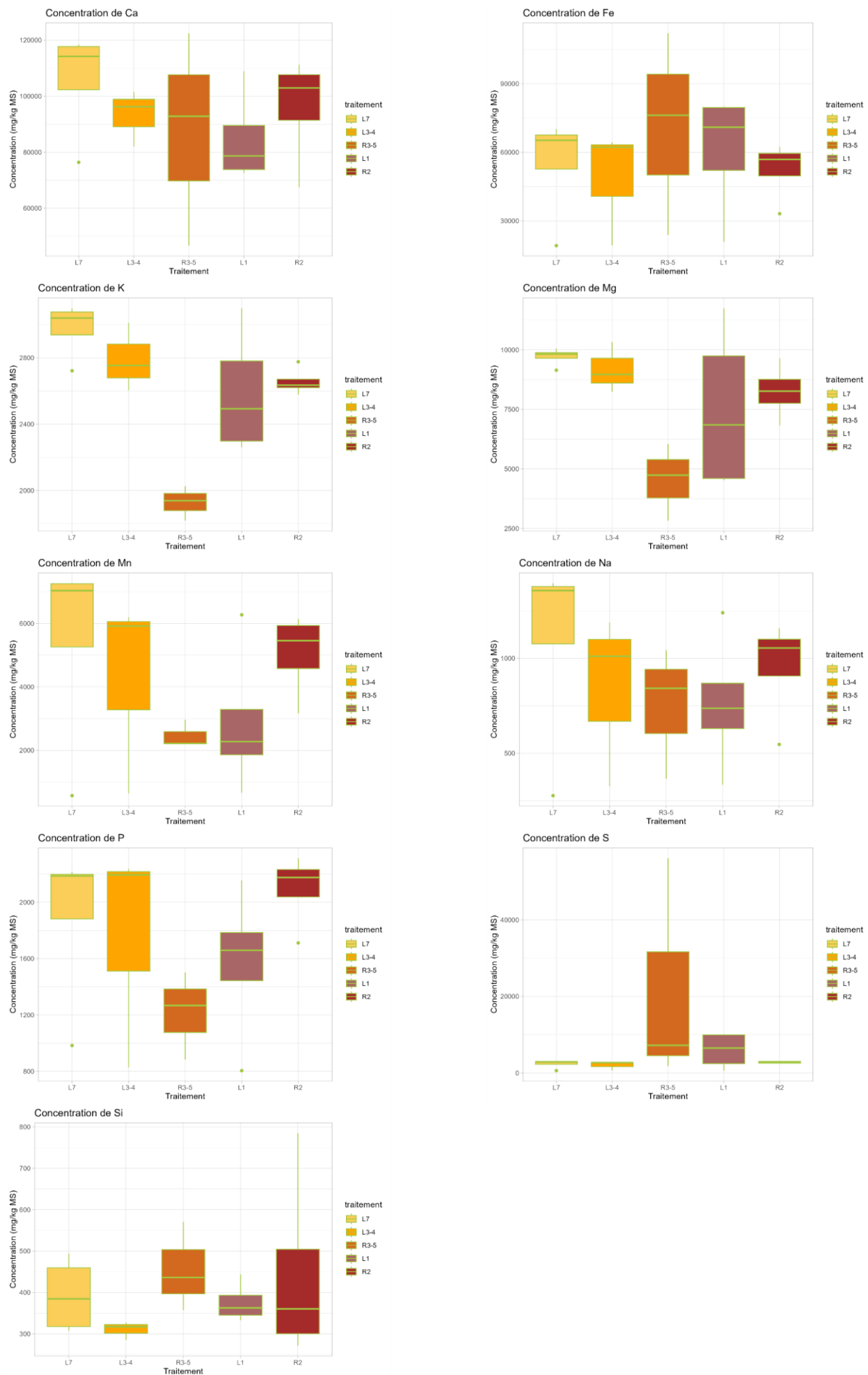


Figure 21 : Concentrations des éléments essentiels dans les sols mesurés par ICP pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où $p\text{-val} < 0,05$

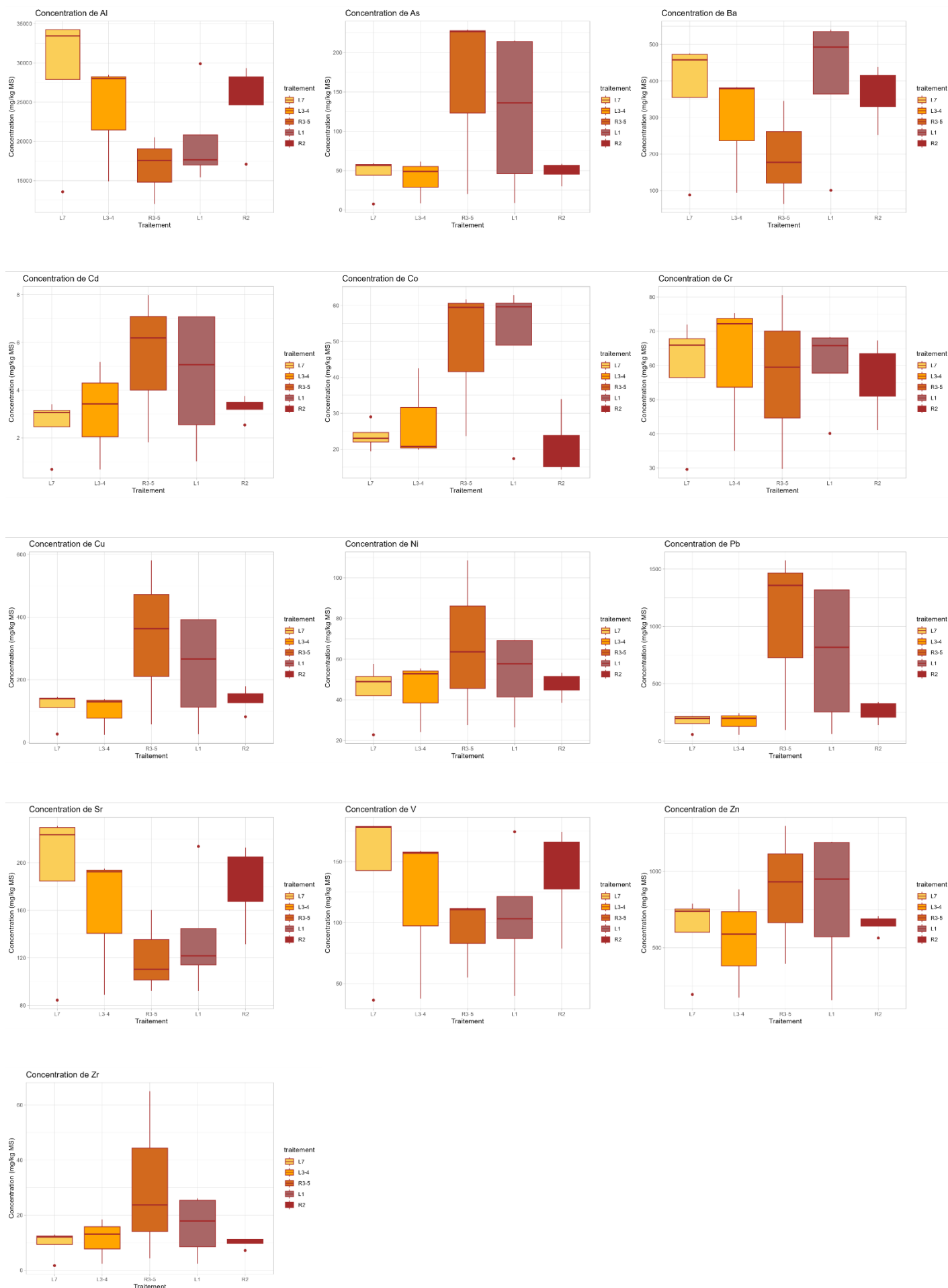


Figure 22 : Concentrations des éléments traces métalliques dans les sols mesurées par ICP pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où $p\text{-val} < 0,05$

Tableau 2 : Moyenne $\pm$ SE des concentrations en mg/kg des ETM retrouvés dans les différents sols par rapport aux valeurs seuils en zone industrielle basée sur le Décret Sol de la Région wallonne (2008)

Eléments	Moyenne $\pm$ SE (mg/kg) par traitement		Valeur seuil (mg/kg)
Arsenic	<i>L7:</i>	45.1 $\pm$ 12.5	65
	<i>L3-4:</i>	39.6 $\pm$ 16.0	
	<i>R3-5:</i>	159.0 $\pm$ 69.3	
	<i>L1:</i>	124.0 $\pm$ 53.1	
	<i>R2:</i>	48.8 $\pm$ 6.45	
Cadmium	<i>L7:</i>	2.56 $\pm$ 0.631	10
	<i>L3-4:</i>	3.09 $\pm$ 1.31	
	<i>R3-5:</i>	5.33 $\pm$ 1.83	
	<i>L1:</i>	4.56 $\pm$ 1.51	
	<i>R2:</i>	3.28 $\pm$ 0.260	
Cobalt	<i>L7:</i>	23.6 $\pm$ 1.99	250
	<i>L3-4:</i>	27.7 $\pm$ 7.42	
	<i>R3-5:</i>	48.3 $\pm$ 12.4	
	<i>L1:</i>	49.9 $\pm$ 10.9	
	<i>R2:</i>	21.0 $\pm$ 4.49	
Chrome	<i>L7:</i>	58.4 $\pm$ 9.70	800
	<i>L3-4:</i>	60.9 $\pm$ 12.9	
	<i>R3-5:</i>	56.6 $\pm$ 14.7	
	<i>L1:</i>	60.0 $\pm$ 6.72	
	<i>R2:</i>	56.2 $\pm$ 5.71	
Cuivre	<i>L7:</i>	113.0 $\pm$ 28.8	500
	<i>L3-4:</i>	97.4 $\pm$ 36.7	
	<i>R3-5:</i>	334.0 $\pm$ 152.0	
	<i>L1:</i>	238.0 $\pm$ 92.1	
	<i>R2:</i>	137.0 $\pm$ 20.3	
Nickel	<i>L7:</i>	44.6 $\pm$ 7.55	200
	<i>L3-4:</i>	44.1 $\pm$ 10.0	
	<i>R3-5:</i>	66.6 $\pm$ 23.4	
	<i>L1:</i>	52.8 $\pm$ 10.3	
	<i>R2:</i>	47.4 $\pm$ 3.23	
Plomb	<i>L7:</i>	169.0 $\pm$ 37.6	500
	<i>L3-4:</i>	166.0 $\pm$ 56.9	
	<i>R3-5:</i>	1010.0 $\pm$ 461.0	
	<i>L1:</i>	755.0 $\pm$ 330.0	
	<i>R2:</i>	259.0 $\pm$ 46.1	
Vanadium	<i>L7:</i>	143.0 $\pm$ 35.6	250
	<i>L3-4:</i>	118.0 $\pm$ 40.1	
	<i>R3-5:</i>	92.8 $\pm$ 18.8	
	<i>L1:</i>	105.0 $\pm$ 27.5	
	<i>R2:</i>	140.0 $\pm$ 21.4	
Zinc	<i>L7:</i>	616.0 $\pm$ 141.0	1000
	<i>L3-4:</i>	548.0 $\pm$ 206.0	
	<i>R3-5:</i>	875.0 $\pm$ 262.0	
	<i>L1:</i>	812.0 $\pm$ 246.0	
	<i>R2:</i>	655.0 $\pm$ 31.6	

II. Résultats des analyses sur les Miscanthus

II.1. Caractéristiques morphologiques

▪ Hauteur des plants

Les résultats de la figure 14 montrent que le type de sol influence significativement la croissance en hauteur des *Miscanthus x giganteus*. Les sols amendés (L3-4) et le néosol (L7) favorisent une croissance plus rapide et plus importante des plantes par rapport aux sols bruts, particulièrement en L1.

Au premier stade de croissance, en juillet, les plantes du traitement L7 (néosol) sont significativement plus grandes de 53,6% par rapport à celles du traitement L1 (sol brut) ($p < 0.0001$).

Au deuxième stade de croissance, en août, les plantes situées en zone recolonisée (R3-5 et R2) se portent aussi bien que celles situées sur le sol propre, malgré le fort taux de contamination auquel elles sont exposées. On peut tout de même remarquer que les plantes en sol contaminé (R2) sont plus petites que les plantes en sol amendé (R3-5) dans la même zone.

Au troisième stade de croissance, début octobre, ce sont les plantes sur les sols amendés qui sont les plus hautes. Les plantes de L3-4 et de R3-5 sont entre 35 et 38% plus grandes que celles de L1 ($p = 0.0004$). Les plantes de L7 sont également plus grandes que celles de L1, avec une différence moyenne de 21,4 cm, bien que cette différence soit à la limite de la signification statistique ($p = 0.0780$) (Figure 23).

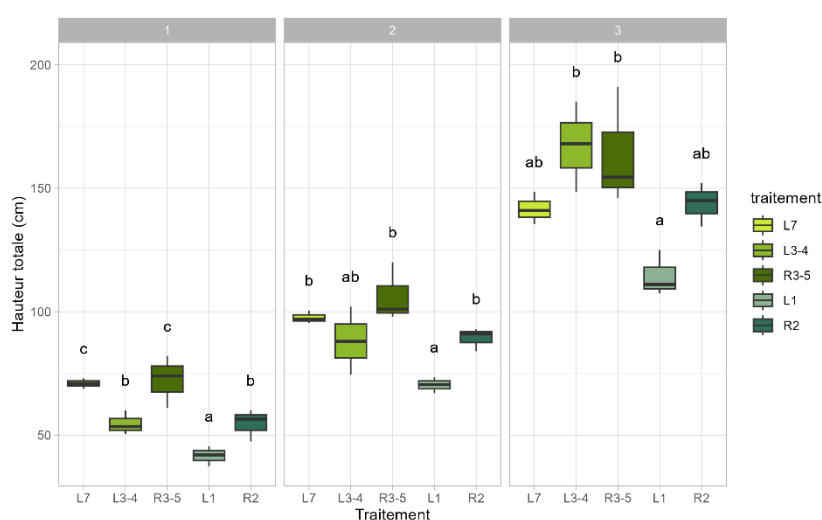


Figure 23 : hauteurs des plantes de *Miscanthus x giganteus* mesurées à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour les différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée).

▪ Longueur des feuilles intermédiaires

Les sols amendés (L3-4 et R3-5) et le néosol (L7) favorisent également une croissance plus rapide et plus importante des feuilles par rapport aux sols bruts, particulièrement en L1.

Au premier stade de croissance, les plantes du traitement L7 (néosol) ont des feuilles significativement plus longues d'environ 20% par rapport à celles des traitements en sols bruts L1 et R2 ($p = 0.0092$ et 0.0148). Cette tendance s'observe aussi pour les stades de croissance plus avancés. En juillet et août, les feuilles des

Miscanthus de R3-5 sont elles aussi significativement plus grandes par rapport celles des sols bruts. Les autres comparaisons entre traitements ne montrent pas de différences significatives (Figure 24).

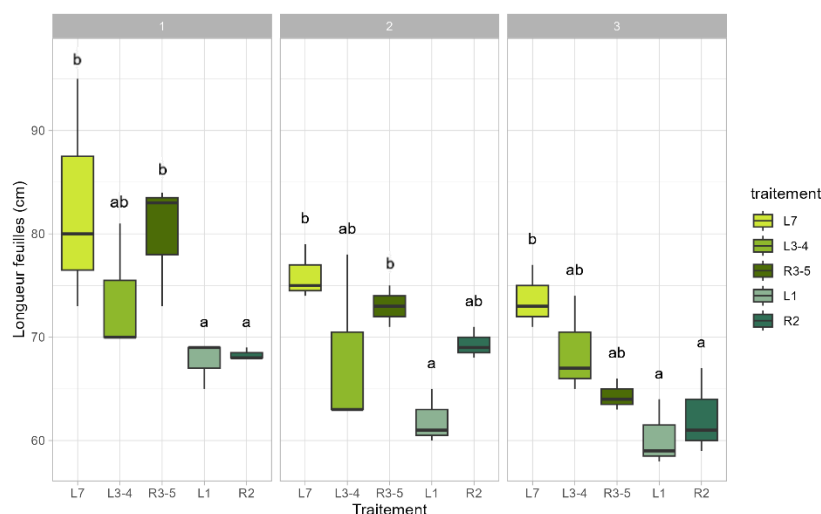


Figure 24 : Longueurs des feuilles intermédiaires des plantes de *Miscanthus x giganteus* mesurées à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée)

■ Nombre de feuilles

Enfin la dernière caractéristique morphologique observée est le nombre de feuilles par plante. Comme pour la croissance et la longueur des feuilles, les résultats montrent que les sols amendés (L3-4 et R3-5) et le néosol (L7) favorisent également une augmentation significative du nombre de feuilles des *Miscanthus x giganteus* par rapport aux sols bruts, particulièrement en L1.

En juillet, les plantes du néosol (L7) ont un nombre de feuilles de 7,5 en moyenne ce qui est significativement supérieur à celles sur sols bruts (L1 et R2) qui n'en n'ont que 6 en moyenne ($p = 0.0009$ et $p = 0.0106$). Les *Miscanthus* sur sols amendés ont également un nombre de feuilles supérieur comparé à celui des *Miscanthus* poussant sur sols bruts. En août, les différences ne sont pas significatives mais la même tendance s'observe.

Enfin au dernier stade de croissance, comme pour la hauteur, ce sont les plantes des sols amendés (L3-4 et R3-5) qui ont le plus grand nombre de feuilles avec une moyenne de 17 feuilles par plants. Cette différence est significativement supérieure par rapport aux *Miscanthus* du traitement L1 qui ne comptent en moyenne que 13,7 feuilles ($p = 0.0004$ et $p = 0.0026$) (Figure 25).

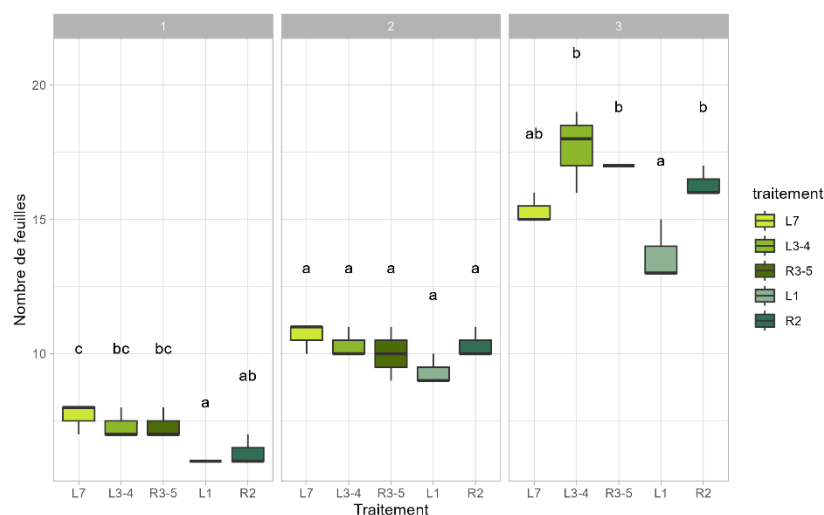


Figure 25 : Nombre de feuilles totales des plantes de *Miscanthus x giganteus* mesurées à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée).

■ Biomasse

En octobre, avant la récolte, les feuilles et les tiges fraîches et sèches de *Miscanthus x giganteus* ont été pesées afin de quantifier la biomasse. Le souhait de ne pas sacrifier, en cours de culture, des plantes utilisées par l'ASBL Promisc qui mettait la parcelle à notre disposition, nous a conduit à estimer la croissance sur des parties de plantes récoltées de façon standardisée. Seule la masse des feuilles sèches des plantes développées sur le néosol est statistiquement différente en comparaison avec celle des plantes sur le sol brut (L1). En effet, une feuille récoltée sur une plante en L7 pèse en moyenne un gramme de plus par rapport à une feuille récoltée en L1. Bien que les différences ne soient pas vérifiées statistiquement, nous pouvons néanmoins observer que les tiges sèches des plantes cultivées en L7, comme les feuilles, tendent également à être plus lourdes par rapport à celles sur sol brut L1. Le poids frais est généralement plus important dans les sols L7, L3-4 et R3-5 par rapport aux deux sols contaminés bruts (L1 et R2). Cette différence reste bien marquée avec la matière sèche par rapport au traitement L1. Les masses des feuilles et des tiges des *Miscanthus* poussant en R2 sont, elles, similaires à celles des plantes poussant sur les sols amendés lorsque la matière est séchée (Figure 26).

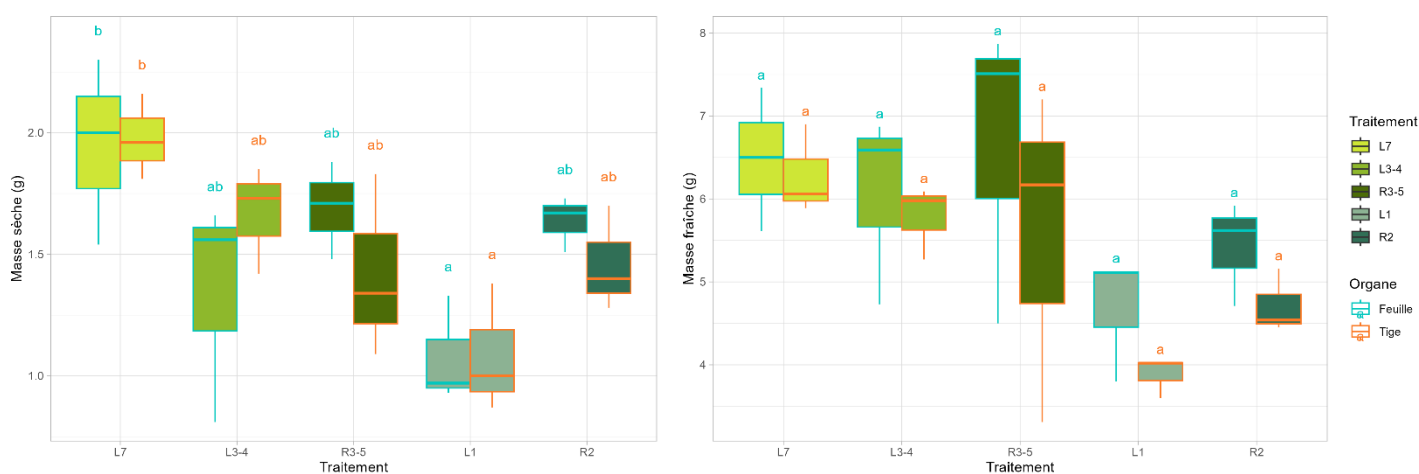


Figure 26 : Biomasse des feuilles et tiges (a) sèches et (b) fraîches de *Miscanthus x giganteus*, mesurée sur une feuille et sur un morceau de 8 centimètres de tige, pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée) Basé sur 3 réplicas par traitements. Testé en Anova 2 où $p\text{-val} < 0,05$

II.2. Activité photosynthétique et pigments

II.2.1. Efficience de la photosynthèse

■ Photosynthèse nette

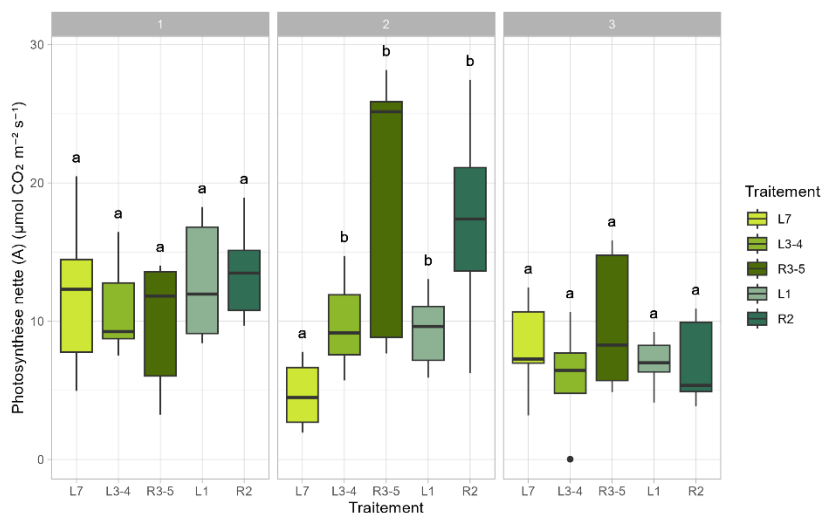


Figure 27 : Taux de photosynthèse nette mesuré avec l'IRGA à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 9 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où $p\text{-val} < 0,05$

L'analyse de la photosynthèse nette (A) des plantes en fonction des traitements montre peu de variations significatives. Lors du deuxième stade de croissance, les plantes poussant en zone recolonisée, et particulièrement sur la ligne R3-5, se distinguent cependant par des niveaux de photosynthèse plus élevés, indiquant une performance photosynthétique accrue à ce stade. À l'inverse, celles sur le néosol présentent le taux de photosynthèse le plus faible au même stade.

Cependant, ces résultats ne permettent pas de tirer des conclusions définitives, car aucune tendance générale ne se dessine à travers la durée de l'expérience. Les stades de croissance 1 et 3 n'ont pas révélé de différences significatives entre les traitements (Figure 27).

■ Transpiration instantanée

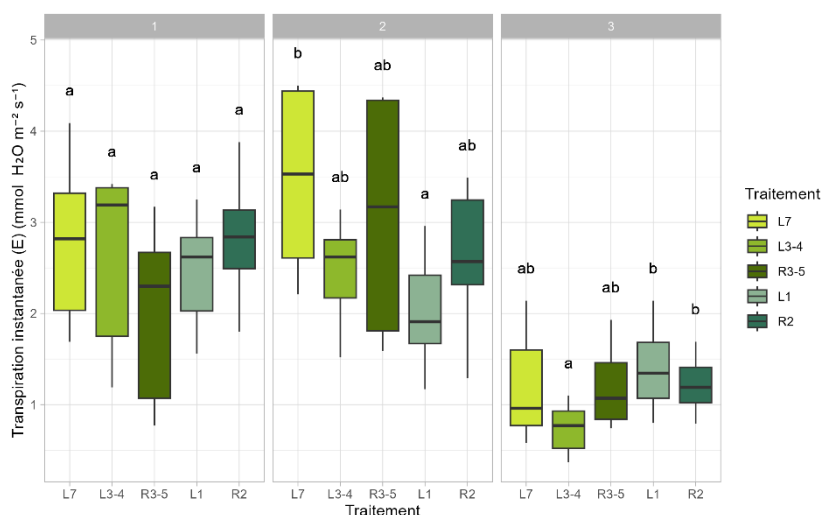


Figure 28 : Taux de transpiration instantanée mesuré avec l'IRGA à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 9 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où $p\text{-val} < 0,05$

Comme pour la photosynthèse, le premier stade de croissance ne montre pas de différences significatives de transpiration instantanée (E). En août cependant, les Miscanthus poussant sur le néosol montrent une transpiration significativement plus élevée par rapport à ceux situés en zone de clairière. À ce stade, les plantes sur le sol brut L1 ont une transpiration plus faible. Au dernier stade de croissance la

transpiration instantanée des Miscanthus sur L1 n'est plus statistiquement différente par rapport à ceux poussant sur le néosol. A ce stade de développement ce sont les plantes sur le traitement L3-4 qui présentent des taux légèrement plus faibles de transpiration (Figure 28).

■ Concentration intercellulaire en CO₂

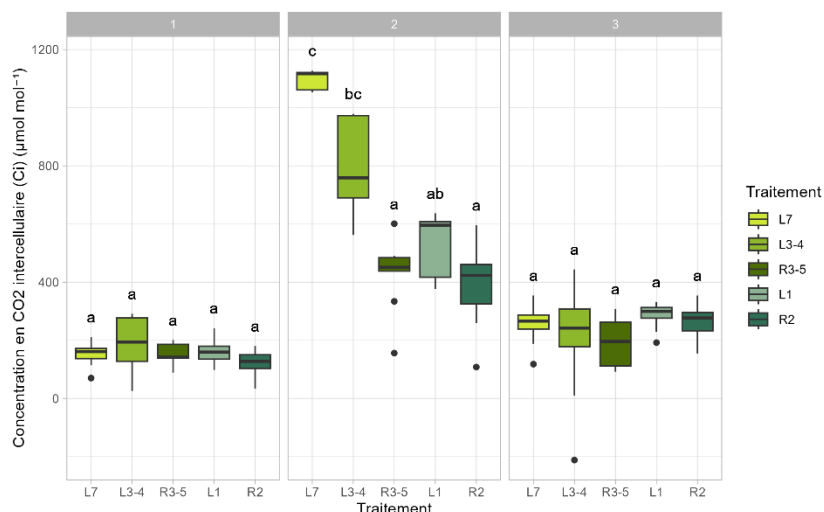


Figure 29 : Concentration en CO₂ intercellulaire mesurées avec l'IRGA à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 9 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où $p\text{-val} < 0,05$

Concernant la concentration en CO₂ intercellulaire, comme pour les autres paramètres observés avec l'IRGA, c'est en août que l'on observe des différences notables entre les traitements. Les plantes poussant sur le néosol indiquent des taux de CO₂ nettement plus élevés par rapport à celles des autres traitements. Les plantes du traitement L3-4 présentent également un taux de CO₂ élevé, surtout comparé aux plantes qui poussent sur la zone recolonisée ($p = 0,02$ et $0,003$) (Figure 29).

■ Conductance stomatique

Parmi les paramètres influençant directement la photosynthèse et la transpiration, il y a la conductance stomatique. Mesurée également avec l'IRGA, elle indique l'ouverture des stomates. Ainsi comme pour la transpiration, lors du deuxième stade de croissance, les végétaux sur L7 présentent une conductance stomatique significativement plus élevée, indiquant des stomates plus ouverts ($p = < 0,0001$). De même en août ce sont les Miscanthus sur le traitement L3-4 qui présentent les plus faibles taux de conductance stomatique.

La conductance mesurée avec le poromètre indique un résultat opposé à celle mesurée grâce à l'IRGA. En effet, lors du 2^{ème} stade de développement, ce sont les Miscanthus du néosol qui présentent les valeurs les plus faibles de conductance stomatique comparées aux végétaux poussant sur les 4 autres traitements (Figure 30).

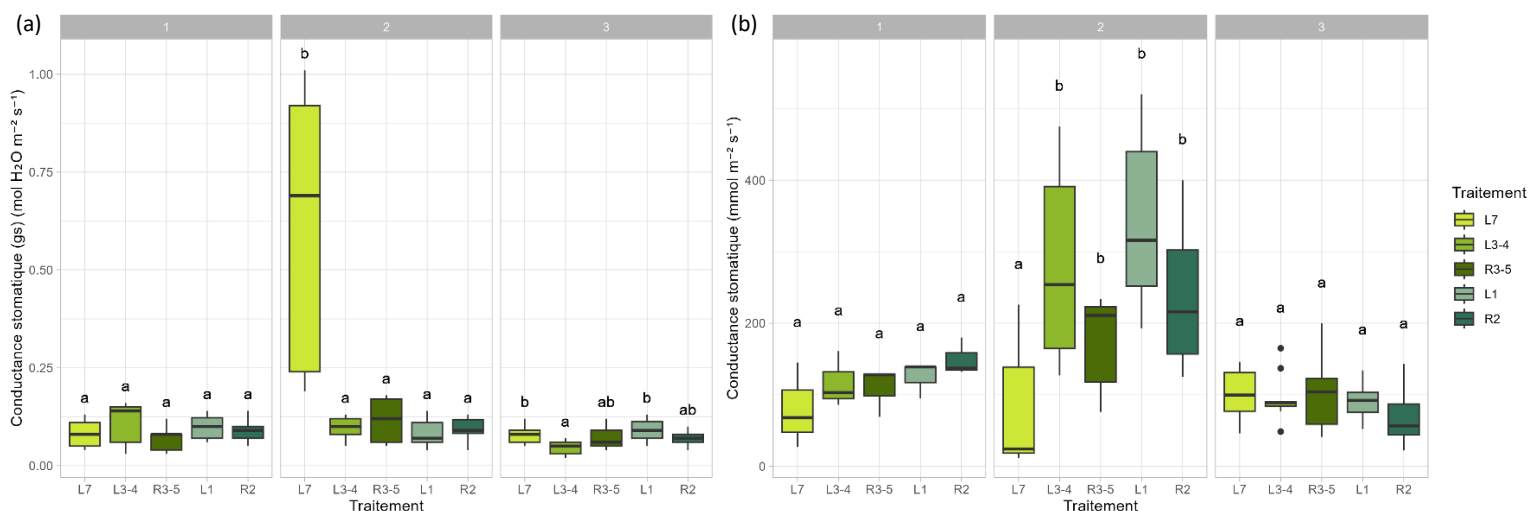


Figure 30 : Taux de conductance stomatique mesurées avec (a) l'IRGA et (b) le poromètre à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L4-3 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 9 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où $p\text{-val} < 0,05$

■ Teneur en sucres solubles totaux

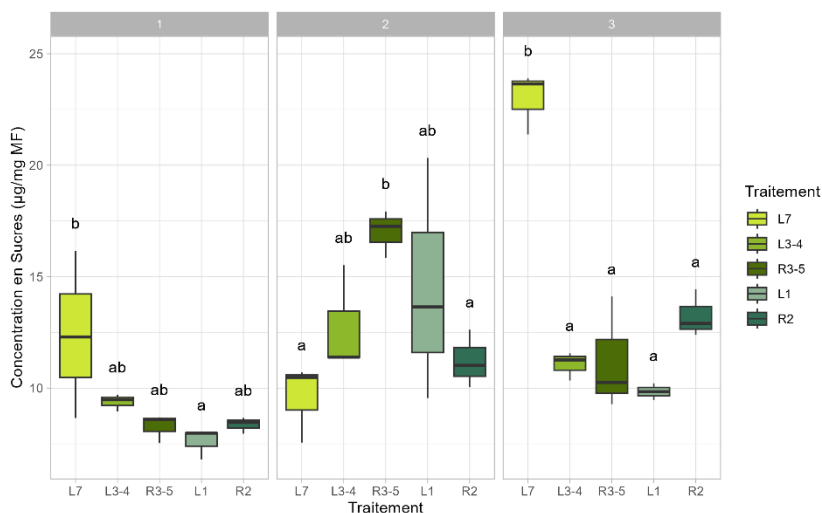


Figure 31 : Concentrations en sucres mesurées par spectrophotométrie à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où $p\text{-val} < 0,05$

La figure 31 présente les résultats du dosage des sucres solubles totaux. Lors du premier stade de développement, les plantes du néosol sont celles qui ont les plus hautes concentrations en sucre ($p=0,0001$). Celles-ci sont statistiquement plus élevées que les teneurs rencontrées dans les plantes qui prospèrent sur le sol brut de la zone clairière (L1). En août, la tendance s'inverse puisque les plantes de L7 produisent moins de sucre que celles des autres traitements. Cependant cette différence n'est statistiquement

différente qu'avec les Miscanthus de la ligne R3-5 où la teneur en sucre est en moyenne plus grande. Enfin lors du dernier dosage, ce sont de nouveau les Miscanthus du néosol qui ont les plus hautes concentrations en sucre, notamment plus de 2 fois supérieures à celles qu'on retrouve dans les feuilles de L1 (Figure 31).

II.2.2. Pigments photosynthétiques

■ Indice de chlorophylle et azote (PNA)

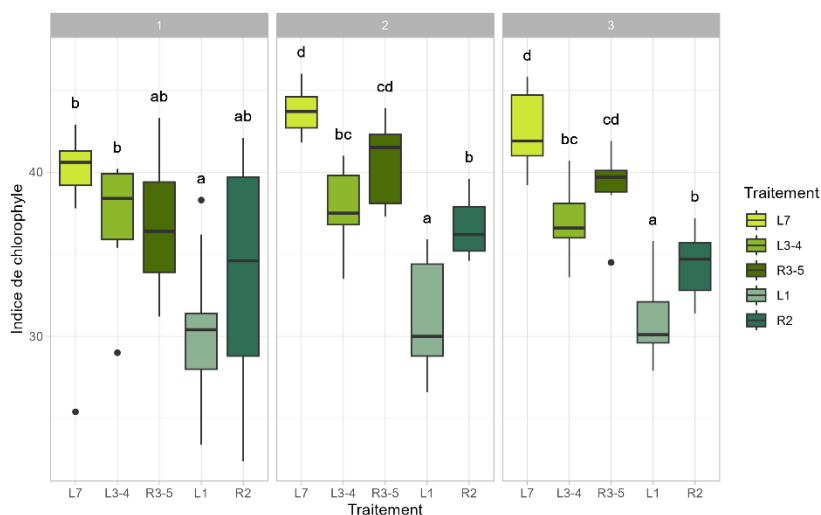


Figure 32 : Indice de chlorophylle des feuilles de *Miscanthus x giganteus* mesurées avec le PNA à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 9 réplicas par traitements. Testé en Anova 1 où $p\text{-val} < 0,05$

Les analyses des indices de chlorophylle et en azote, mesurées avec le Plant Nutritional Analyzer (PNA) montrent des variations significatives entre les différents traitements des sols. De manière générale, les plantes cultivées dans le néosol (L7) et dans les sols amendés (L3-4 et R3-5) présentent des indices de chlorophylle et d'azote plus élevés comparativement aux plantes des sols bruts (L1 et R2).

Pour les trois stades de croissance, les végétaux sur le néosol L7

affichent des teneurs en chlorophylle significativement plus élevées que ceux des traitements L1 ($p < 0,0001$). Il y a également plus de chlorophylle dans les *Miscanthus* de L7 par rapport à ceux sur sol brut R2 lors des deux derniers stades de développement.

Les plantes du traitement L3-4 et R3-5 montrent également des teneurs en chlorophylle plus élevées que celles du traitement L1. Les valeurs de chlorophylle des *Miscanthus* poussant sur les lignes R3-5 sont comparables à celles des plantes du néosol sur toute la période d'expérimentation.

Les différences de teneur en chlorophylle entre les *Miscanthus* du traitement R2 et les autres sols ne sont pas statistiquement significatives, mais les tendances montrent que ces plantes tendent à avoir des taux de chlorophylle plus faibles (Figure 32).

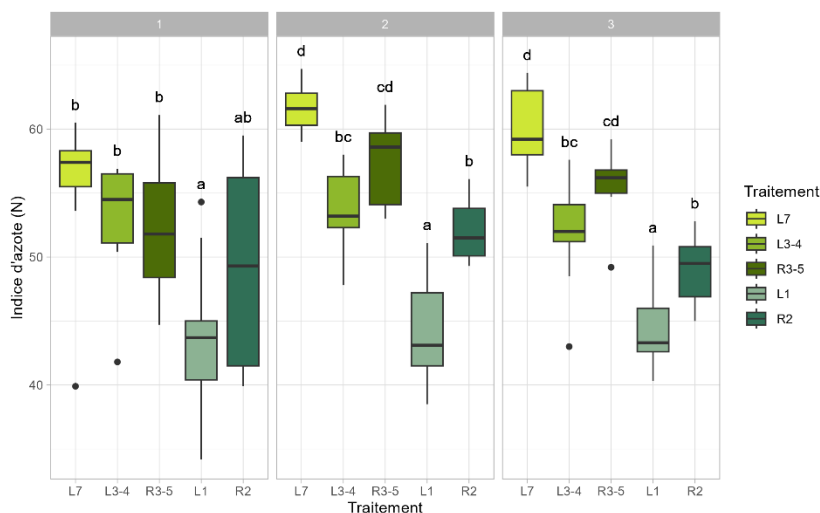


Figure 33 : Teneurs en azote des feuilles de *Miscanthus x giganteus* mesurées avec le PNA à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée) Basé sur 9 réplicas par traitements. Testé en Anova 1 où $p\text{-val} < 0,05$

Les niveaux d'azote dans les feuilles des plantes, également mesurés avec le PNA, suivent une tendance très similaire à ceux de la teneur en chlorophylle puisque l'azote est un élément essentiel dans la synthèse de celle-ci (Figure 33).



Figure 34 : Photo des *Miscanthus x giganteus*

Sur la figure 34 on observe un jaunissement assez marqué des feuilles des *Miscanthus* situés en L1 (à l'avant de la photo), comparativement à ceux en L7 à l'arrière. Les vieilles feuilles semblent particulièrement affecté. On peut aussi observer une nécrose sur les feuilles plus âgées des plantes évoluant en L1.

▪ Teneur en pigments

Aux différents stades de croissance, les concentrations de chlorophylle a sont plus élevées dans les plantes poussant sur le néosol (L7) par rapport aux autres traitements et particulièrement aux plantes situées en L1. Lors du dernier stade, les plantes en L7 ont 2,5 fois plus de chlorophylle a que les plantes en L1 ($p = < 0,0001$). A ce stade, les plantes des traitements R3-5 et R2 ont aussi significativement moins de chlorophylle a en comparaison avec celles de L7. En juillet et août, ce sont également les *Miscanthus* du néosol qui ont les meilleures teneurs de ce pigment bien que la différence avec les autres sols ne soit pas aussi marquée qu'en

octobre. A ces mêmes périodes, les plantes de R3-5 présentent elles aussi d'importantes teneurs en chlorophylle a et ce sont toujours les végétaux en L1 qui présentent les concentrations les plus basses.

Concernant la chlorophylle b, bien que les plantes de L3-4 ont significativement des taux plus faibles en août, ce sont globalement dans les *Miscanthus* cultivés sur le néosol (L7) et dans les sols amendés (R3-5 et L3-4) qu'on observe les plus hautes concentrations. Les taux les plus faibles de chlorophylle b sont présents dans les plantes du traitement R2 lors du premier stade de croissance puis dans le traitement L1 lors des autres périodes d'expérimentation.

Enfin les derniers pigments à avoir été dosés sont les caroténoïdes. Comme pour la chlorophylle a, ils sont plus concentrés dans les plantes du traitement L7. De même, les végétaux en L1 et R2 montrent des concentrations en caroténoïde plus faibles principalement au deuxième et troisième stade de développement. Au premier stade, ce sont les plantes de L1 et L3-4 qui ont des taux significativement inférieurs.

De manière générale, pour les 3 pigments, ce sont les plantes en L7 (néosol) et R3-5 (amendé) qui présentent les meilleurs taux, suivi des plantes de L3-4 (amendé). Celles-ci ont des teneurs relativement basses en juillet et août mais elles s'améliorent fortement en octobre dépassant même les concentrations des plantes de R3-5. A l'inverse les plantes poussant sur le sol brut, essentiellement celles situées sur la ligne L1, indiquent des teneurs en pigments moindres comparativement avec celles des 2 autres types de sols (*Figure 35*).

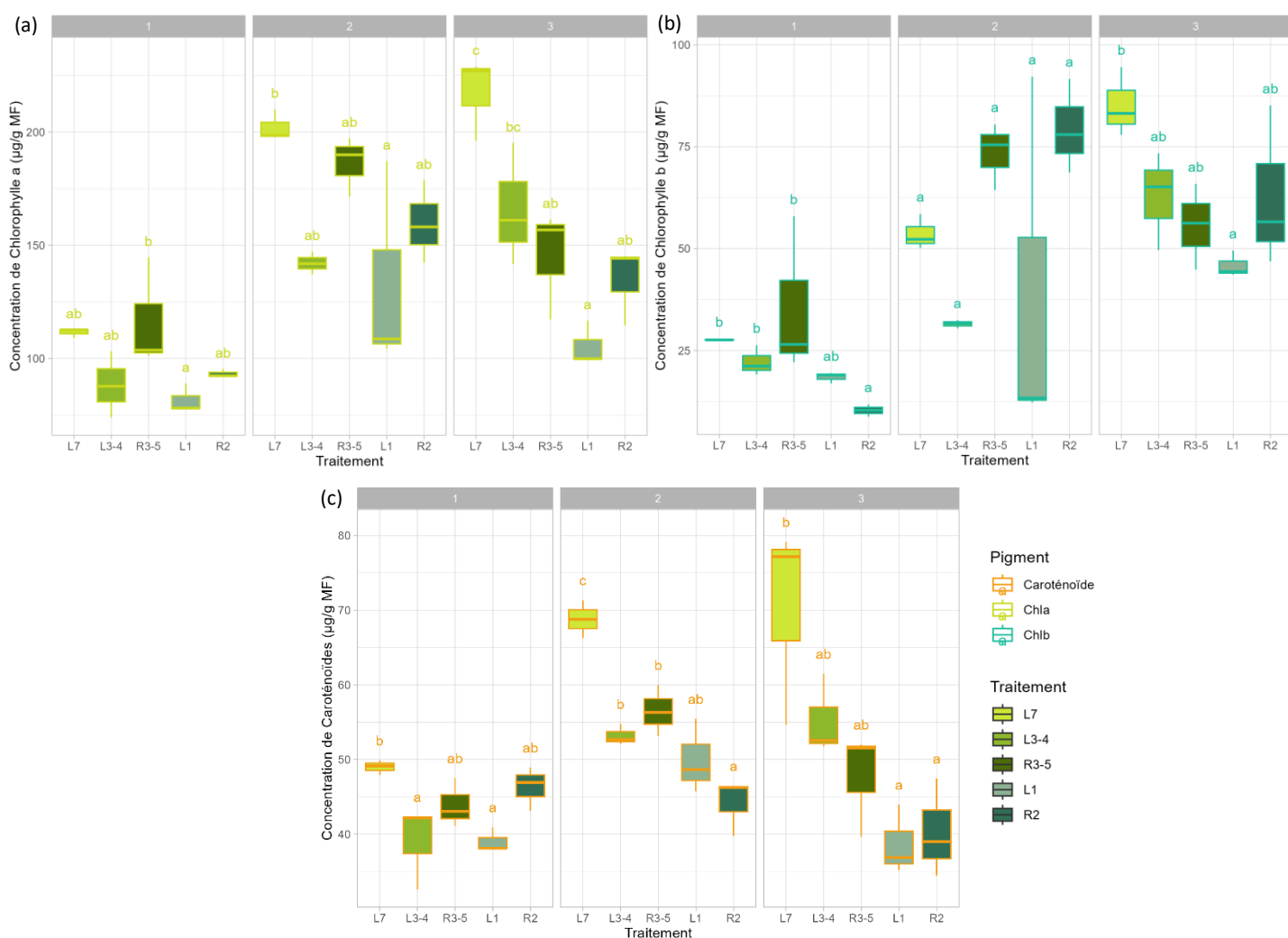


Figure 35 : Concentrations en pigments ; (a) chlorophylle a, (b) chlorophylle b, (c) caroténoïde ; mesurées par spectrophotométrie à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05

II.2.3. Température foliaire

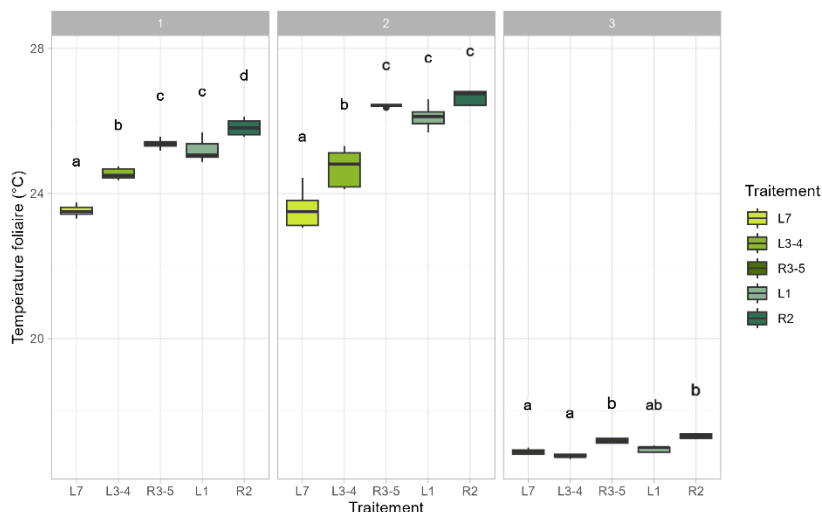


Figure 36 : Température foliaire du *Miscanthus x giganteus* mesurée avec le PNA à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 9 réplicas par traitements. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05

Le Plant Nutritional Analyzer permet aussi de mesurer la température foliaire. Les résultats se sont révélés intéressants puisque la température des feuilles de *Miscanthus* installés sur les sols R3-5, L1 et R2 est significativement plus élevée que celle des plantes en L7 et L3-4. En juillet et août, les *Miscanthus* sur néosol présentent une température foliaire statistiquement plus basse par rapport à celle des végétaux de tous les autres traitements. En octobre la température des feuilles diminue fortement puisque à cette période la température environnante baisse (Figure 36).

II.3. État nutritionnel

▪ Teneur en éléments essentiels dans les parties aériennes

Bien qu'on observe une forte accumulation de potassium dans les tiges lors du premier stade de croissance, les feuilles tendent à accumuler plus d'éléments essentiels que les tiges. Les différences entre les traitements sont très variables selon l'élément et les stades de croissance des *Miscanthus*, mais les taux les plus élevés se retrouvent souvent dans les traitements L7, L3-4 et R3-5. C'est le cas notamment pour le potassium, où la différence avec les sols bruts est très marquée au premier stade de croissance. Les plantes du néosol (L7) présente des teneurs élevées en magnésium comparées aux autres traitements. On retrouve également les meilleures teneurs en sodium dans les tiges et dans les feuilles des traitements L7 et L3-4. Le phosphore est présent en quantité significativement plus élevée lors du premier stade de croissance dans les plantes poussant sur les traitements L3-4 mais aussi en R2. Sur sol brut (R2), les parties aériennes présentent également les plus hautes teneurs en aluminium, surtout en octobre, bien que la concentration de cet élément soit relativement faible dans toutes les plantes. Sur sol amendé en zone recolonisée (R3-5), les tiges et les feuilles affichent les concentrations les plus élevées pour le calcium et le soufre. Cependant, elles présentent des taux bas de fer, principalement au dernier stade de développement si on les compare au traitement L7. Bien que toutes les différences ne soient pas toujours statistiquement significatives, les plantes prélevées sur le sol brut de la zone clairière (L1) sont celles qui présentent le plus de carences en éléments majeurs (Figure 37 ; Tableau 3).

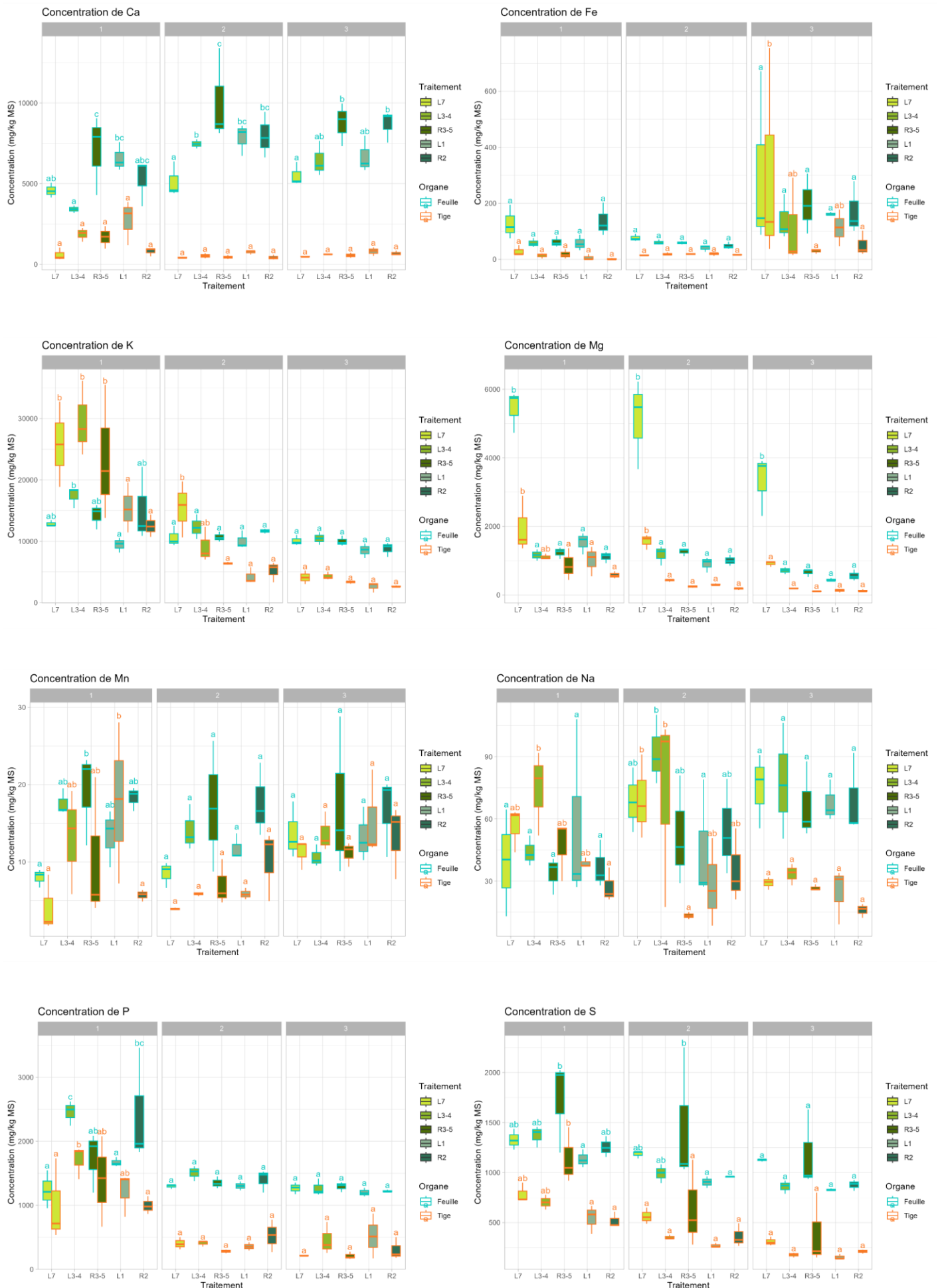


Figure 37 : Concentrations des éléments essentiels dans les tiges (en orange) et dans les feuilles (en bleu) de *Miscanthus* mesurées par ICP à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 répliques par traitement et par organe à chaque stade de développement. Testé en Anova 3 où $p\text{-val} < 0,05$

Tableau 3 : Moyenne $\pm$ SE des concentrations d'élément majeur en % de matière sèche retrouvés dans les *Miscanthus* des différents sols par rapport au nutrient sufficiency ranges (NSRs) des parties aériennes (Leo M. Walsh and James D. Beaton 1973; Cadoux et al. 2012; Vengavasi et al. 2024)

Élément	Organe	L7	L3-4	R3-5	L1	R2	NSRs (%)
Calcium	Feuille	0,507 $\pm$ 0,027	0,578 $\pm$ 0,064	0,864 $\pm$ 0,080	0,704 $\pm$ 0,035	0,732 $\pm$ 0,064	0,5 - 2
	Tige	0,050 $\pm$ 0,007	0,101 $\pm$ 0,023	0,090 $\pm$ 0,023	0,144 $\pm$ 0,040	0,064 $\pm$ 0,008	
Potassium	Feuille	1,118 $\pm$ 0,053	1,340 $\pm$ 0,114	1,164 $\pm$ 0,077	0,935 $\pm$ 0,043	1,188 $\pm$ 0,139	1,5 - 3
	Tige	1,512 $\pm$ 0,343	1,433 $\pm$ 0,403	1,110 $\pm$ 0,365	0,741 $\pm$ 0,214	0,679 $\pm$ 0,153	
Magnésium	Feuille	0,463 $\pm$ 0,043	0,102 $\pm$ 0,010	0,105 $\pm$ 0,011	0,096 $\pm$ 0,017	0,089 $\pm$ 0,010	0,15 - 0,8
	Tige	0,148 $\pm$ 0,021	0,058 $\pm$ 0,014	0,041 $\pm$ 0,014	0,048 $\pm$ 0,016	0,030 $\pm$ 0,007	
Phosphore	Feuille	0,127 $\pm$ 0,005	0,174 $\pm$ 0,019	0,146 $\pm$ 0,011	0,139 $\pm$ 0,007	0,168 $\pm$ 0,024	0,1 - 0,3
	Tige	0,054 $\pm$ 0,016	0,086 $\pm$ 0,022	0,063 $\pm$ 0,023	0,070 $\pm$ 0,016	0,061 $\pm$ 0,012	
Soufre	Feuille	0,121 $\pm$ 0,004	0,107 $\pm$ 0,008	0,146 $\pm$ 0,017	0,096 $\pm$ 0,005	0,103 $\pm$ 0,006	0,1 - 0,3
	Tige	0,055 $\pm$ 0,007	0,041 $\pm$ 0,008	0,072 $\pm$ 0,015	0,032 $\pm$ 0,006	0,036 $\pm$ 0,005	

▪ Teneur en éléments essentiels dans les rhizomes

Au moment de la sénescence des feuilles, en décembre, des échantillons de rhizome ont été récoltés (Figure 38). Les résultats montrent que seul le calcium présente des taux statistiquement différents entre les traitements. Pour cet élément, comme dans les feuilles et les tiges, c'est dans les rhizomes prélevés sur le sol brut R2 qu'on retrouve les teneurs les plus élevées principalement en comparaison avec les rhizomes du néosol. Les concentrations des autres éléments ne sont pas significativement différentes, cependant la même tendance s'observe entre les rhizomes et les parties aériennes. Sachant que le modèle statistique pour la teneur des parties aériennes est plus puissant puisqu'il compare aussi les stades de développement et les organes, nous pouvons imaginer qu'avec un plus grand nombre d'échantillons de rhizomes, plus d'éléments présenteraient les mêmes différences statistiques que celles reprises dans les tiges et les feuilles. Par exemple, le magnésium qui est plus concentré dans les plantes de L7 comparé aux autres traitements (Figure 39).



Figure 38 : (a) Récolte des rhizomes le 11/12/2024 (b) échantillon de rhizome

▪ Teneur en éléments essentiels dans les parties aériennes sénescentes

Début 2023, l'ASBL PROMISC m'a fourni des échantillons de feuilles et de tiges des *Miscanthus* prélevés lors de la récolte de l'hiver 2022. Malheureusement ils n'ont pas différencié les lignes des sols contaminés. Cependant les résultats entre le néosol et les sols contaminés en général se sont tout de même révélés intéressants. A part pour le manganèse on peut constater qu'il y a beaucoup moins de nutriments dans les feuilles et tiges sénescentes en comparaison à leur phase de croissance. Ce qui indique très certainement une remobilisation de ceux-ci vers les rhizomes (Figure 40).

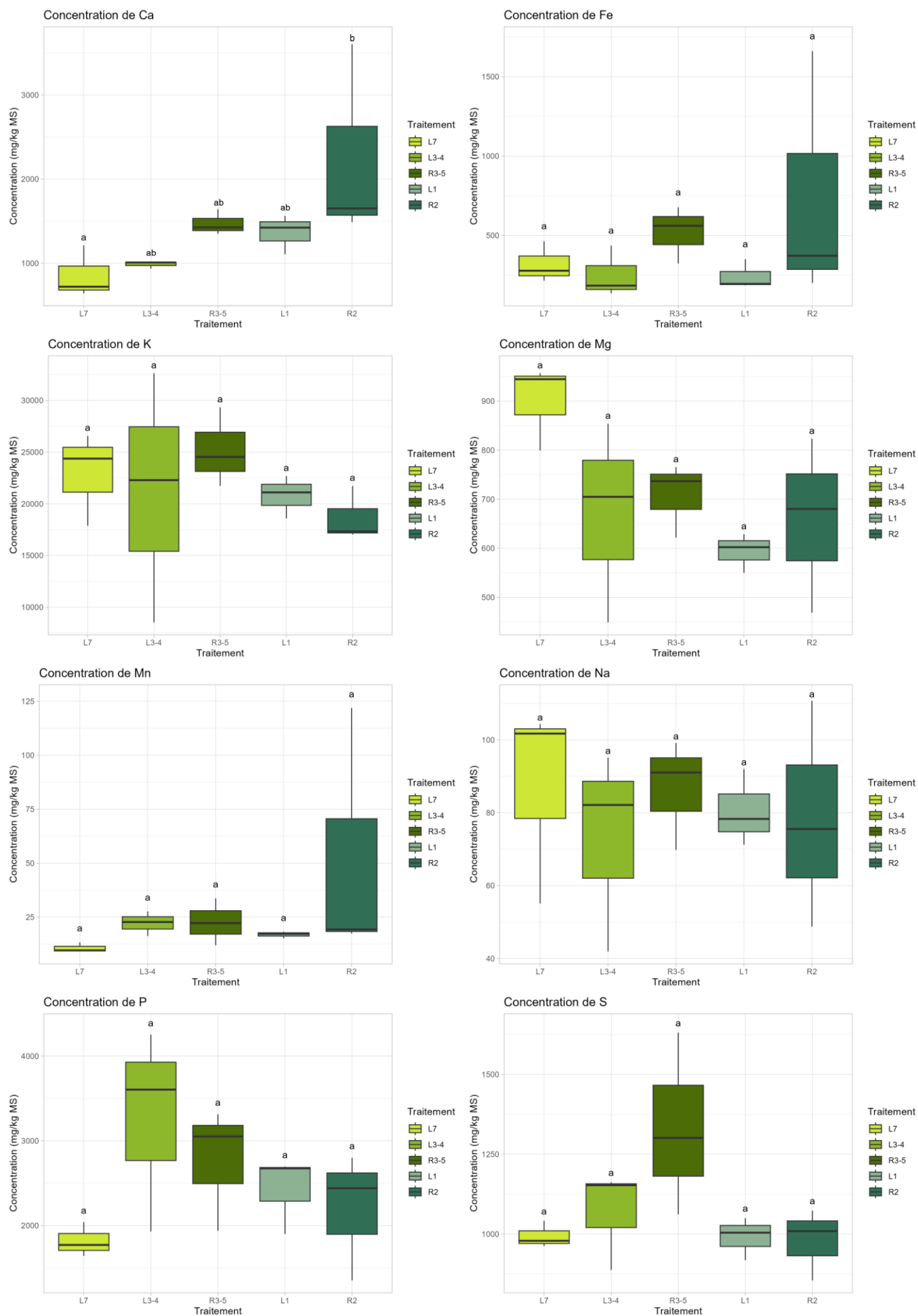


Figure 39 : Concentrations des éléments essentiels dans les rhizomes de *Miscanthus* mesurées début de l'hiver par ICP pour différents traitements de sol : L7(néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 et Krustal Wallis où $p\text{-val} < 0,05$

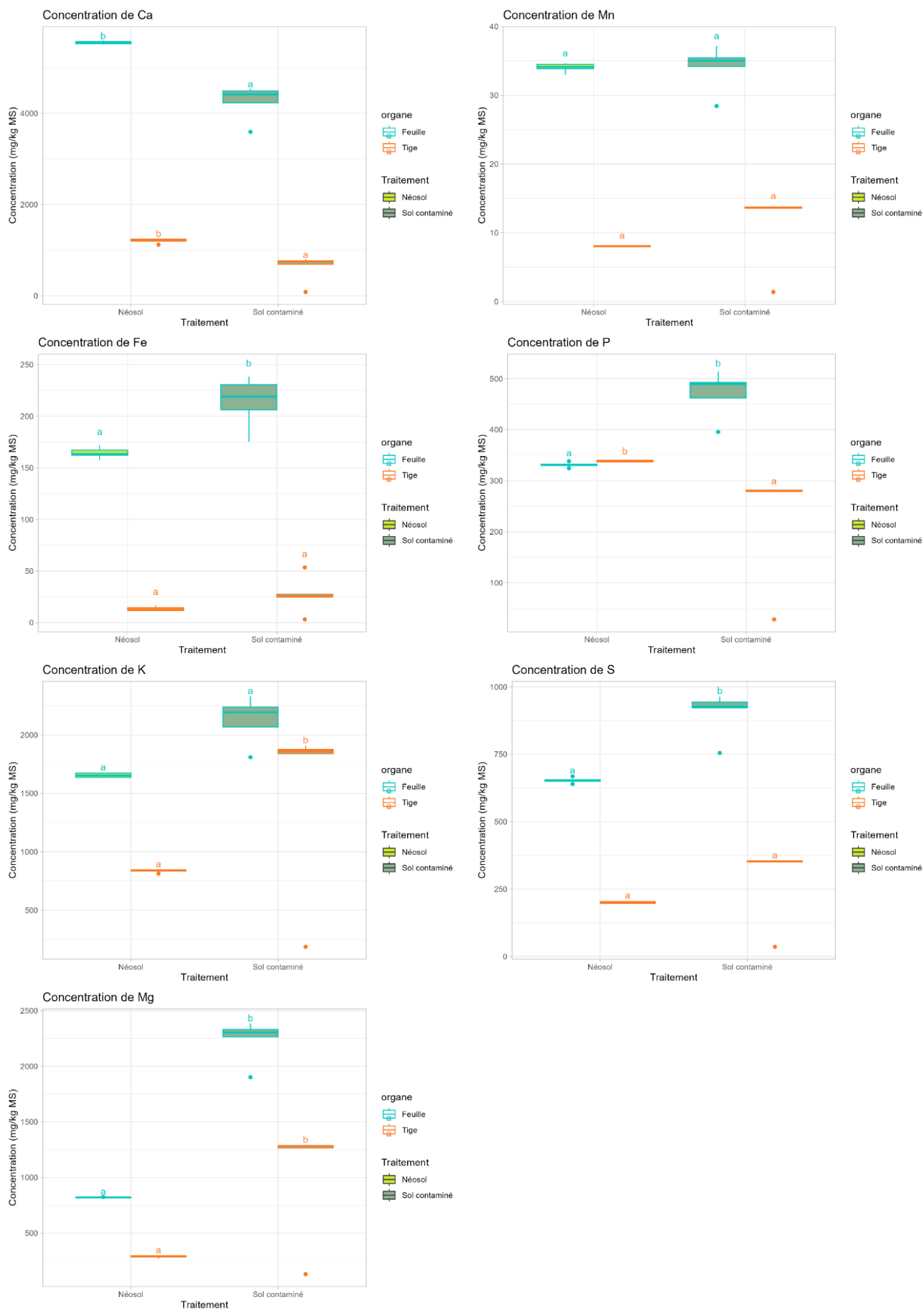


Figure 40 : Concentrations des éléments essentiels dans les feuilles et tiges sénescentes de *Miscanthus* mesurées par ICP pour différents traitements de sol : L7(néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 et Krustal Wallis où $p\text{-val} < 0,05$

II.4. État de stress et stratégies de protection

▪ **Malondialdéhyde (MDA)**

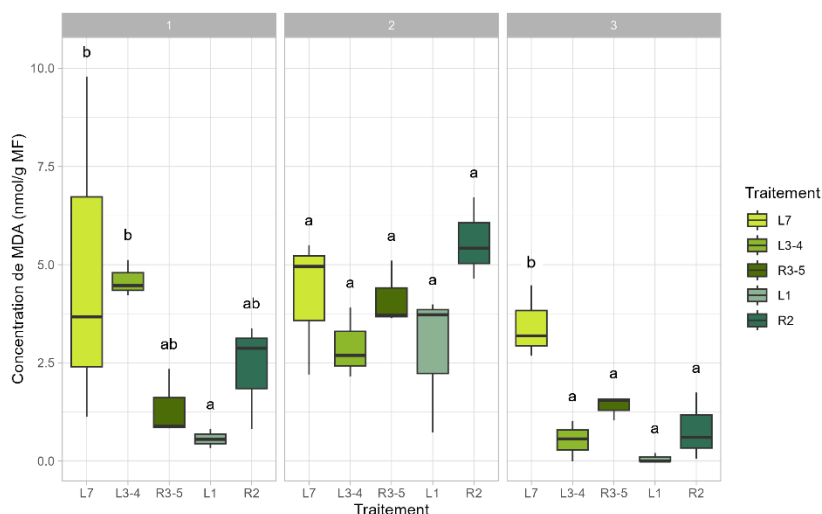


Figure 41 : Concentrations en MDA mesurées par spectrophotométrie à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où $p\text{-val} < 0,05$

▪ **Polyphénols**

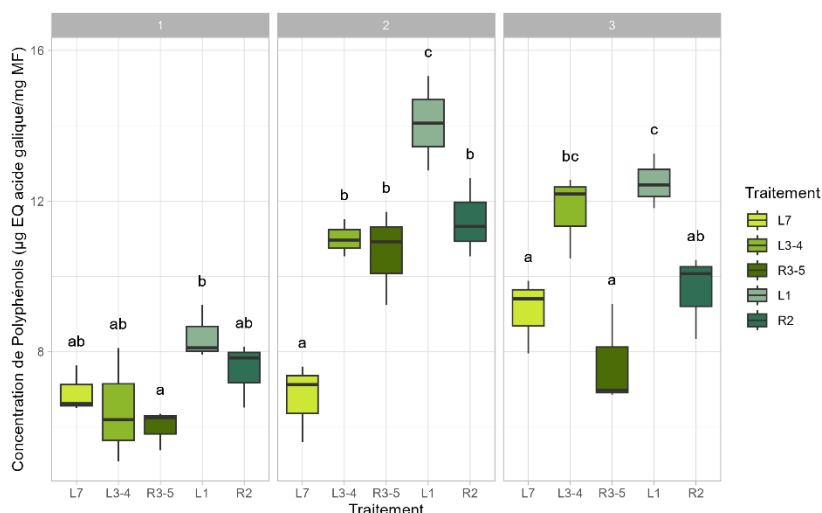


Figure 42 : Concentrations en polyphénols mesurées par spectrophotométrie à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où $p\text{-val} < 0,05$

▪ **Flavonoïdes**

Dans les sous-classes des polyphénols nous rencontrons les flavonoïdes qui jouent eux aussi un rôle dans la protection aux stress environnementaux. Contrairement au polyphénol, le dosage des flavonoïdes n'a pas révélé d'importantes différences de concentrations entre les plantes poussant sur les différents sols. Aucune tendance générale ne se dessine non plus à travers la période d'expérimentation même si nous pouvons noter que les plantes poussant sur le néosol et sur L3-4 présentent les plus fortes concentrations lors des

Les concentrations en malondialdéhyde, un marqueur de stress oxydatif, sont plus importantes dans les plantes cultivées sur le néosol (L7) en juillet et en octobre principalement. Malgré la présence d'une pollution aux éléments traces métalliques dans le sol L1 et R3-5, les plantes évoluant sur cette ligne ont globalement de faibles taux en MDA (Figure 41).

Les résultats du dosage des polyphénols, un antioxydant, nous montrent des différences importantes entre les Miscanthus de chaque traitement. Ceux qui poussent sur le sol brut L1 présentent les concentrations les plus élevées à chaque stade de développement des plantes. Les plantes situées sur L7 et R3-5 ont globalement des taux de polyphénols moindres lors des 3 périodes de dosage ($p < 0,0001$ entre les plantes de L1 et L7 en août). Enfin en L3-4 et R2, les plantes montrent des niveaux intermédiaires mais tout de même significativement plus faibles que ceux des plantes en L1 lors du mois d'août et d'octobre (Figure 42).

mois de juillet et d'octobre. En août, ce sont les plantes de L1 et de R3-5 qui se distinguent par rapport aux autres traitements (*Figure 43*).

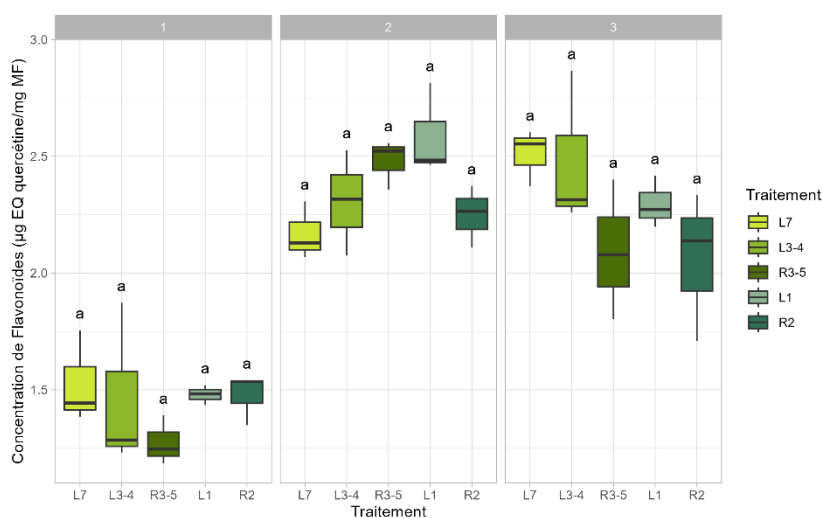


Figure 43 : Concentrations en flavonoïde mesurées par spectrophotométrie à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05

■ Glutathion (GSH)

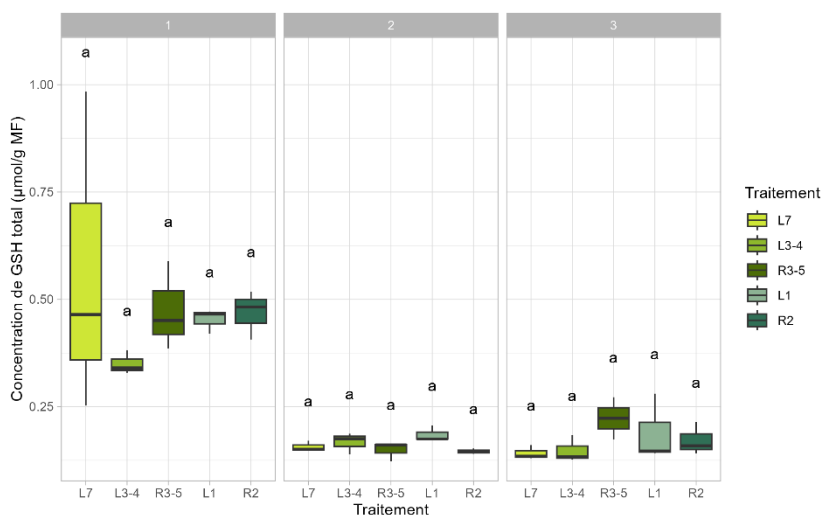


Figure 44 : Concentrations en glutathion total mesurées par spectrophotométrie à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où p-val < 0,05

La capacité antioxydante de la plante peut être en partie évaluée grâce à la quantité totale de glutathion (GSH) contenue dans les feuilles de *Miscanthus*. En juillet, certaines plantes cultivées en L7 révèlent une concentration importante de GSH total. Les *Miscanthus* du traitement R3-5 montrent également des taux relativement élevés en comparaison avec les plantes des autres traitements, lors du premier et du dernier dosage. Cependant, aucune de ces différences n'est vérifiée statistiquement (*Figure 44*).

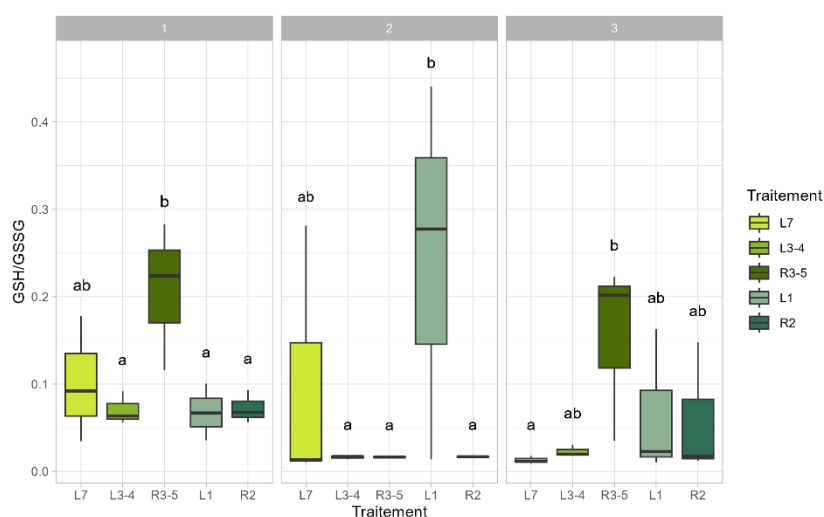


Figure 45 : Rapport entre le GSH réduit et le GSSG glutathion oxydé mesurées par spectrophotométrie à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7 (néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut) et R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement. Testé en Anova 1 où $p\text{-val} < 0,05$

Le rapport GSH réduit/GSSG oxydé est marqueur de l'état redox de la cellule. Il nous renseigne sur sa capacité à gérer le stress oxydatif (Rai et al. 2023). Les plantes du traitement R3-5 ont un rapport élevé lors du 1^{er} et 3^{ème} stade de croissance. Les Miscanthus de L7 ont eux aussi une tendance à avoir un rapport plus grand, nous pouvons l'observer lors du 1^{er} et 2^{ème} stade de développement. Enfin les plantes cultivées en L1 ont le plus grand ratio de GSH/GSSG pendant le mois d'août (Figure 45).

▪ Thiols totaux et phytochélates

Tableau 4 : Moyenne $\pm$ SE des concentrations en $\mu\text{mol/g}$ MF des thiols totaux et des phytochélates retrouvés dans les feuilles des Miscanthus cultivés sur les différents sols

Sols	Stade de croissance	Moyenne Thiol $\pm$ SE	Moyenne Phytochélatine $\pm$ SE
L7	Juillet	178,48 $\pm$ 9,19	177,91 $\pm$ 9,19
	Août	153,45 $\pm$ 16,34	153,29 $\pm$ 16,34
L3-4	Juillet	141,80 $\pm$ 2,59	141,45 $\pm$ 2,59
	Août	148,95 $\pm$ 6,17	148,79 $\pm$ 6,17
R3-5	Juillet	199,72 $\pm$ 10,99	199,25 $\pm$ 10,99
	Août	190,30 $\pm$ 26,78	190,15 $\pm$ 26,78
L1	Juillet	179,05 $\pm$ 6,25	178,60 $\pm$ 6,25
	Août	196,78 $\pm$ 4,45	196,59 $\pm$ 4,45
R2	Juillet	169,49 $\pm$ 9,17	169,02 $\pm$ 9,17
	Août	175,01 $\pm$ 9,25	174,86 $\pm$ 9,25

Malheureusement à la suite de problèmes lors de la manipulation du dosage des thiols totaux, je n'ai pas pu récolter de résultats satisfaisants pour le mois d'octobre. Cependant lors des 2 premiers mois, les différences de concentration de thiols totaux et de phytochélatine (calculée en soustrayant la concentration de glutathion totale à celle des thiols) n'étaient pas statistiquement significatives. Les plantes cultivées sur le sol R3-5 semblent toutefois produire légèrement plus de phytochélates dans leurs feuilles que celles des autres sols. Lors du deuxième stade de croissance les Miscanthus de L1 ont eux aussi des teneurs un peu plus élevées de phytochélates en comparaison aux végétaux des autres sols (Tableau 4).

II.5. Contamination aux ETM

▪ ***Teneur en éléments traces métalliques dans les parties aériennes***

La figure 46 montre que les *Miscanthus x giganteus* accumulent certains ETM dans ses parties aériennes. On retrouve notamment au 3^{ième} stade de croissance du plomb et du vanadium dans les feuilles des plantes poussant sur le sol brut (L1 et R2). Le zinc s'est lui aussi accumulé avec des concentrations allant jusqu'à 84 mg/kg dans la tige en juillet sur le R3-5 et L1 principalement. Sa teneur a ensuite fortement diminué au cours de la saison. L'arsenic est aussi présent en faible concentration dans la tige principalement au 2^{ième} stade de développement en L1 et lors du dernier dosage en L7. Les *Miscanthus* sur sol brut de la zone recolonisée (R2) ont des teneurs significativement plus élevées de nickel et de chrome lors du premier de stade croissance dans les feuilles. Les taux de baryum varient également selon les traitements. Les végétaux sur néosol (L7) sont statistiquement moins concentrés en baryum par rapport à L1 en juillet, puis à L3-4 et R2 en août et octobre (*Figure 46*). Malgré les teneurs importantes de cadmium, de cobalt et d'étain présentes dans le sol, aucune trace de ces éléments n'a été retrouvée dans les parties aériennes des plantes de notre expérimentation.

▪ ***Teneur en éléments traces métalliques dans les rhizomes***

Les rhizomes ont des concentrations importantes de plomb dans les feuilles et les tiges en août et octobre. Un des rhizomes collectés dans le sol R3-5 présente presque 12 mg/kg de plomb. Les teneurs en zinc sont aussi assez élevées surtout dans ceux prélevés sur les traitements de la zone recolonisée. On retrouve du vanadium dans les rhizomes des lignes R2 et R3-5 (*Figure 47*).

Contrairement aux tiges et aux feuilles, aucune trace d'arsenic n'a été détectée dans les rhizomes. Le cadmium et le cobalt ne sont pas non plus présents.

▪ ***Teneur en éléments traces métalliques dans les parties aériennes sénescentes***

Comme l'indique la figure 48, même une fois tombées de la plante, on retrouve toujours une faible quantité de plomb dans les feuilles des sols contaminés. Le zinc est lui aussi présent aussi bien dans les feuilles que dans les tiges des *Miscanthus* qui ont grandi sur le sol pollué. Le cadmium, le cobalt, l'arsenic et le vanadium n'ont pas été repérés dans nos échantillons.

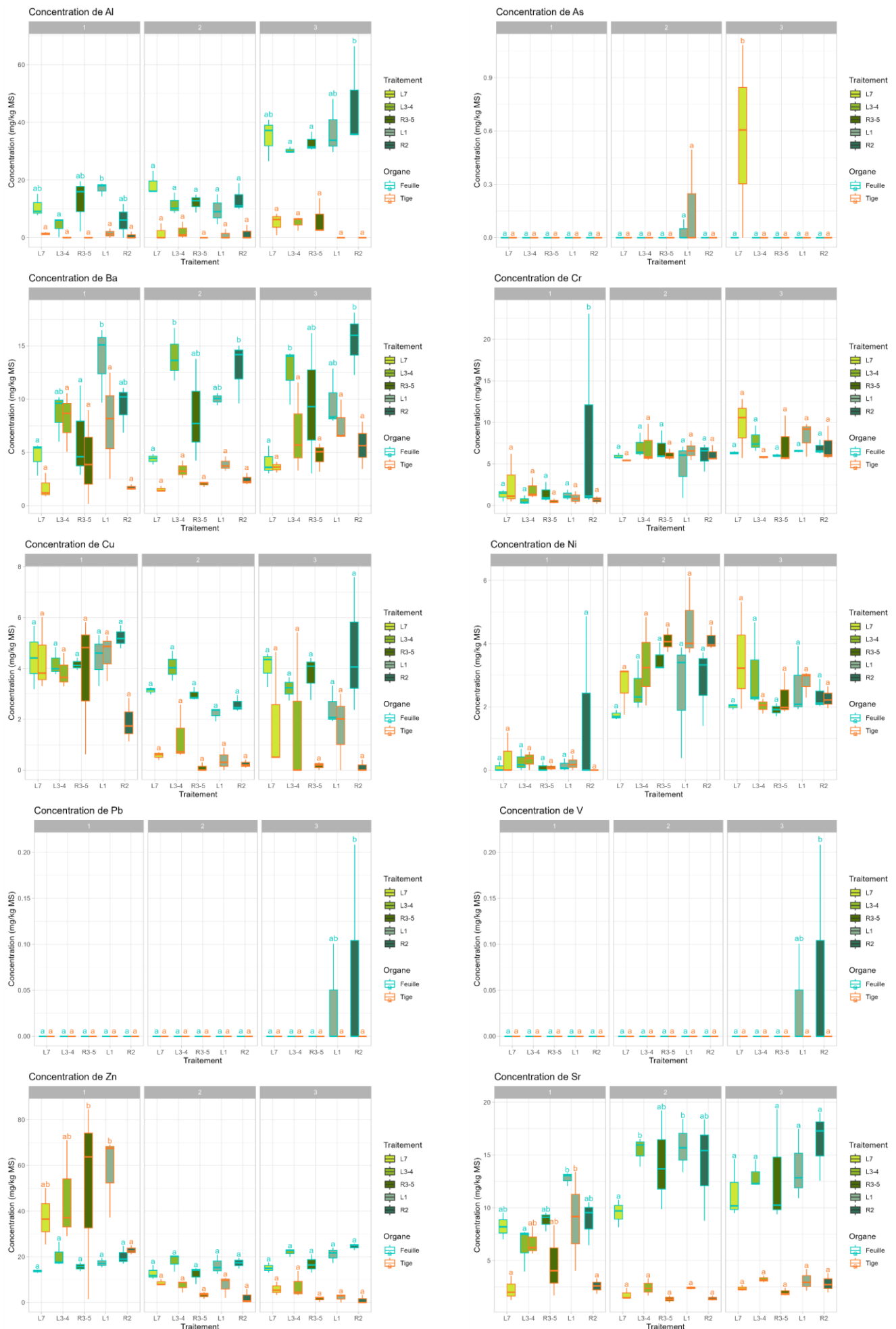


Figure 46 : Concentrations des éléments traces métalliques dans les tiges (en orange) et dans les feuilles (en bleu) de *Miscanthus* mesurées à trois stades de croissance (1= juillet, 2= août, et 3= octobre) pour différents traitements de sol : L7(néosol), L3-4 (sol amendé), R3-5 (sol amendé en zone recolonisée), L1 (sol brut), R2 (sol brut en zone recolonisée). Basé sur 3 réplicas par traitement et par organe à chaque stade de développement. Testé en Anova 3 où p-val < 0,05

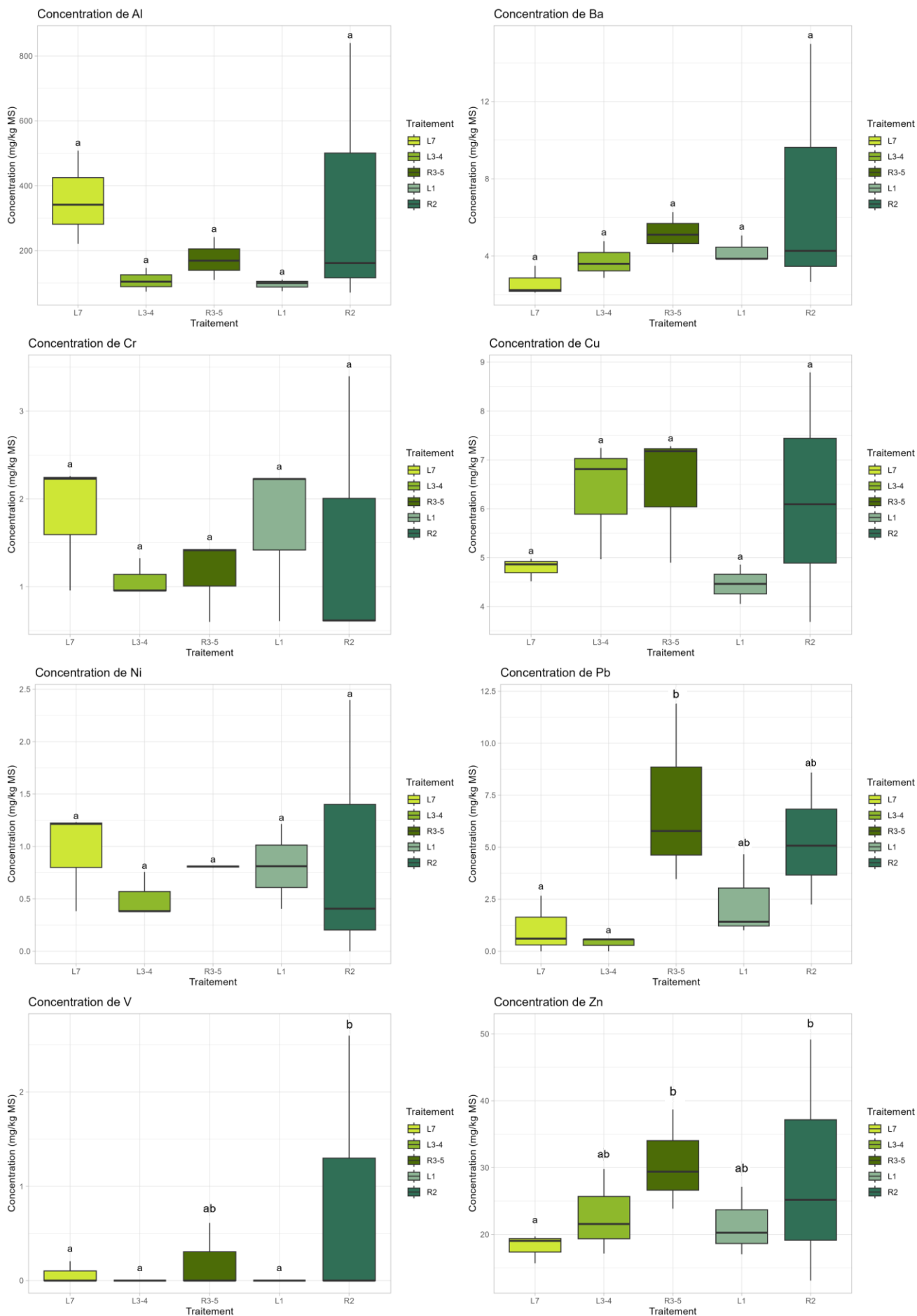


Figure 47 : Concentrations des éléments traces métalliques dans les rhizomes de *Miscanthus* mesurées début de l'hiver pour différents traitements de sol : L1 (sol brut), L4-3 (sol amendé), L7 (néosol), R2 (sol brut en zone recolonisée) et R3-5 (sol amendé en zone recolonisée). Basé sur 3 répliques par traitement. Testé en Anova 1 et Krustal Wallis où $p\text{-val} < 0,05$



Figure 48 : Concentrations des éléments traces métalliques dans les tiges et feuilles sénescentes des *Miscanthus* de 2022 pour différents traitements de sol : néosol et sol contaminé. Basé sur 5 répliques par traitement et par organe. Testé en Anova 2 où $p\text{-val} < 0,05$

Discussion

I. Caractéristiques physico-chimiques et contamination multiple du sol du site expérimental

Notre terrain expérimental présente une contamination significative par des éléments traces métalliques (ETM), notamment le plomb, avec des concentrations atteignant pour certains échantillons le double de la valeur seuil de 500 mg/kg fixée pour les zones industrielles en région Wallonne. Le zinc et l'arsenic sont également présents en quantités élevées, attestant de l'impact anthropique subi par ce site. Ce terrain, laissé à l'abandon, offre une opportunité idéale pour étudier les effets de la contamination et les solutions de remédiation. Le premier objectif de ce travail était de quantifier les paramètres physico-chimiques du sol car ceux-ci sont cruciaux pour comprendre l'influence des différents traitements appliqués et leur impact sur la phytodisponibilité des métaux. La sensibilité des métaux lourds dans le sol est notamment fortement affectée par la CEC et le pH du sol (Lock et Janssen 2001).

L'analyse de pH indique que le sol de notre site expérimental est alcalin, avec des valeurs variant entre 7,5 et 8, et même au-delà de 8 pour certains traitements. Dans un sol basique comme celui-ci, la mobilité des métaux lourds tels que le cadmium (Cd), le plomb (Pb) et le zinc (Zn) est généralement réduite. Le pH élevé favorise la précipitation de ces métaux sous forme d'hydroxydes, carbonates ou phosphates, qui sont moins solubles et donc moins disponibles pour l'absorption par les plantes. (Khan et al. 2015; Siyar et al. 2020). Les sols amendés avec du compost présentent un pH légèrement plus bas par rapport aux sols bruts et au néosol, probablement dû à l'introduction de matière organique plus acide. L'ajout de compost peut, en effet, modifier le pH du sol en le rendant plus neutre ou légèrement acide (Chong 2005). L'apport du compost peut être bénéfique parce que certains nutriments essentiels, tels que le phosphore (P), le fer (Fe) et le manganèse (Mn) sont moins disponibles dans des sols basiques car ils deviennent moins solubles à des pH élevés (Siyar et al. 2020; Kovačević et al. 2022).

Le compost augmente également la capacité d'échange cationique (CEC) du sol grâce à l'ajout de matière organique, qui possède de nombreuses charges négatives permettant de retenir plus de cations (Duong et al. 2012). Les sols amendés montrent effectivement des valeurs de CEC significativement plus élevées et des concentrations accrues de bases échangeables (Ca, K, Mg, Na), ce qui indique une meilleure capacité à retenir et fournir des nutriments essentiels aux plantes. Bien que les valeurs des concentrations de bases échangeables et la CEC du néosol et des sols bruts restent dans une plage acceptable et ne devraient pas être limitantes pour la croissance des plantes, les sols amendés avec du compost présentent un avantage supplémentaire. En effet, une augmentation de la CEC peut également immobiliser les métaux lourds en réduisant leur mobilité et leur biodisponibilité, grâce à la complexation et à la précipitation sous des formes moins solubles (Kherbani 2011; Cipullo et al. 2018).

Le rapport C/N est relativement élevé sur tout le terrain mais particulièrement sur les sols bruts (L1 et R2). Dans ces sols, les microorganismes du sol utilisent l'azote disponible pour décomposer la matière organique riche en carbone, ce qui réduit la disponibilité de l'azote pour les plantes (Klopp et al. 2024). Le sol amendé présente un rapport massique moyen du carbone sur l'azote compris entre 20 et 30, ce qui assure une décomposition plus optimale de la matière organique et une meilleure disponibilité des nutriments. Dans cette plage, il y a un équilibre entre la minéralisation (libération d'azote) et l'immobilisation (utilisation d'azote par les microbes) (Brust 2019).

Le compost de déchets verts contient une proportion équilibrée de matières carbonées (comme les feuilles mortes) et de matières azotées (comme les tontes de gazon). Cet équilibre favorise une décomposition plus rapide de la matière organique et une meilleure disponibilité des nutriments notamment de l'azote, élément essentiel pour les plantes (Feng et al. 2021; LeBlanc and Harrigan 2024). Enfin, l'amendement améliore aussi la structure du sol et en augmente la capacité de rétention d'eau (Liu et Terumasa 2022). Nous avons pu le vérifier dans les résultats de l'humidité résiduelle du sol.

Des études ont montré que les effets d'une application unique de compost peuvent perdurer pendant au moins dix ans. Les chercheurs ont en effet observé des augmentations significatives des stocks de carbone organique et d'azote dans le sol 10 ans après une unique application de compost (Yang et al. 2013). De plus, les microorganismes et bactéries apportés via le compost peuvent perdurer plusieurs années après l'application (Martínez-Blanco et al. 2013). Il n'est donc pas surprenant d'encore observer, même 3 ans après, des effets de l'amendement sur nos parcelles.

Bien que les effets du compost sur la structure et la chimie du sol puissent encore être observables plusieurs années après son application, le temps écoulé peut expliquer pourquoi les sols amendés ne montrent pas nécessairement des quantités plus élevées d'éléments essentiels. En effet, les teneurs en potassium, magnésium et phosphore dans le sol R3-5 sont plus faibles que dans les autres traitements. Une grande partie des nutriments apportés lors de l'amendement a certainement déjà été libérée et utilisée par les plantes. Malgré les concentrations plus faibles observées dans le sol R3-5, aucune des concentrations en éléments essentiels n'est particulièrement basse. Le néosol semble néanmoins légèrement mieux équipé pour soutenir une bonne nutrition des plantes, présentant les teneurs les plus élevées pour plusieurs éléments essentiels.

II. Impacts des propriétés du substrat sur la croissance et le développement des plantes

La contamination aux ETM est importante dans les sols R3-5 et L1 principalement. Il est assez intéressant de comparer les plantes qui poussent sur ces 2 sols afin d'observer l'impact de l'amendement sur la croissance et la physiologie des plantes.

Les *Miscanthus* qui poussent sur le sol R3-5 sont significativement plus grands que les plantes poussant en L1 et ont une taille comparable à ceux de L7 et de L3-4. De même aussi bien pour la longueur des feuilles que pour leur nombre, les plantes en R3-5 se comportent significativement mieux que celles de L1. L'efficacité photosynthétique et les teneurs en sucre présentent aussi de meilleurs résultats pour les *Miscanthus* de R3-5 par rapport à L1. Cette importante différence pourrait être expliquée par plusieurs facteurs.

Premièrement grâce aux meilleures caractéristiques physico-chimiques du sol de R3-5, dues à l'application du compost, et principalement grâce à sa plus grande capacité cationique, il se peut que les *Miscanthus* qui évoluent sur ce sol absorbent moins de métaux que les plantes en L1. Nous avons vérifié cette théorie via l'évaluation des teneurs en éléments traces métalliques au sein des parties aériennes et des rhizomes des plantes. Les résultats n'ont pas révélé de fortes différences entre ces 2 sols, il y a peu de trace d'ETM dans les parties aériennes mais dans les rhizomes, les concentrations de plomb et de zinc sont même au contraire plus élevées au sein des *Miscanthus* de R3-5 par rapport aux rhizomes des *Miscanthus* de L1. Nous discuterons ultérieurement des aspects liés à l'accumulation des ETM dans les plantes. Cependant, la différence entre les plantes cultivées sur ces 2 sols est particulièrement marquée d'un point de vue nutritionnel. Les concentrations élevées de bases échangeables du sol amendé R3-5 se reflètent dans la

nutrition des plantes puisque celles-ci ont les meilleurs taux de calcium et des taux significativement plus élevés de potassium (K) comparativement aux plantes du traitement L1. Elles ont aussi des taux plus élevés de soufre. Les plantes de L1 présentaient par ailleurs des carences en potassium, magnésium mais aussi de faibles taux de soufre comparé aux fourchettes de suffisance nutritionnelle du *Miscanthus* qu'on retrouve dans la littérature (Cadoux et al. 2012). Nebeská et al. (2022) ont rapporté que des plantes de *Miscanthus x giganteus* poussant sur des sols contaminés en ETM peuvent présenter des carences en certains éléments essentiels, même si ceux-ci sont disponibles au sein du substrat, ce qui témoigne d'un impact des ETM sur les phénomènes d'absorption des ions par la plante. Ce phénomène peut être lié soit à un impact sur la spéciation des éléments essentiels (Shen et al. 2022), soit à un impact sur les modalités de fonctionnement des transporteurs (Singh et al. 2022; Mubeen et al. 2023; He et al. 2024).

Un autre élément majeur nécessaire en grande quantité pour les plantes est l'azote. Outre ses fonctions prépondérantes dans la synthèse des protéines, l'azote est un composant indispensable de la chlorophylle. Lors d'une carence en azote, un jaunissement des feuilles est visible. Le jaunissement des feuilles des plantes en L1 était très marqué surtout en comparaison avec les feuilles des *Miscanthus* installés sur le néosol. Lorsque nous avons estimé l'efficacité nutritive en azote des plantes grâce au PNA, nous avons pu prouver qu'en effet en L1, les *Miscanthus* avaient de faibles taux d'azote et par conséquent de chlorophylle en comparaison avec les plantes cultivées sur les autres sols dont celles en R3-5. La réduction des teneurs en chlorophylle peut résulter soit d'une altération dans les taux de synthèse, soit (et c'est plus souvent le cas) d'une stimulation des chlorophyllases (enzymes qui catalysent la dégradation de la chlorophylle) induite par l'éthylène dont la surproduction est souvent rapportée chez les plantes confrontées aux métaux lourds en lien avec l'induction d'une sénescence précoce (Adnan et al. 2024).

Les meilleurs taux d'azote dans les sols contaminés amendés par rapport aux sols bruts (L1 et R2) peuvent s'expliquer par le rapport C/N plus équilibré de ces sols ou encore par l'intervention de bactéries fixatrices d'azote qui ont pu être amenées avec le compost et dont la contribution n'est pas négligeable dans la nutrition azotée des *Miscanthus x giganteus* (Cadoux et al. 2012). Outre les bactéries, les microorganismes en général contenus dans le compost jouent un rôle crucial dans la santé et la fertilité des sols. Ils sont essentiels dans le cycle des nutriments notamment pour la libération d'éléments essentiels comme l'azote mais aussi le phosphore et le soufre, rendant ces éléments disponibles pour les plantes (Giller et al. 1998).

Les dosages au spectrophotomètre ont montré des résultats similaires avec une diminution significative des pigments dans les feuilles des plantes de L1. Cependant, vu que la contamination en R 3-5 et en L1 est plus au moins identique aussi bien dans les sols qu'au sein des plantes, il est intéressant de se demander quels autres phénomènes interviennent pour justifier la croissance élevée des *Miscanthus* se développant sur les lignes R3-5. Il a par exemple été montré par plusieurs auteurs que le compost, outre son action sur la réduction de biodisponibilité des métaux, contenait des quantités appréciables d'acides humiques et fulviques dont les propriétés biostimulantes sont aujourd'hui bien établies. Ofori-Agyemang et al. (2024) ont récemment rapporté l'effet bénéfique de ces substances sur du *Miscanthus* poussant sur sol contaminé. Outre leurs effets bénéfiques directs, les substances humiques ont également une action auxinique qui pourrait expliquer une stimulation de croissance (Wiszniewska et al. 2016).

De plus ces éléments jouent un rôle dans la gestion du stress chez les plantes. Par exemple, la teneur en azote dans les plantes est associée à la capacité du système antioxydant à éliminer les espèces réactives de l'oxygène (ROS). Une amélioration des activités des enzymes antioxydantes et d'antioxydants endogènes, dont les teneurs en glutathion (GSH), a été rapportée dans des conditions normales d'approvisionnement en N par rapport à un traitement faiblement azoté (Wang et al. 2024). Le niveau total de glutathion n'était pas

clairement différent entre nos traitements mais le rapport GSH/GSSG était plus élevé pour R3-5 en juillet et en octobre, ce qui pourrait résulter d'une meilleure activité de la glutathion réductase, une enzyme clé dans le cycle de Asada (Feki et al. 2021).

Grâce à leur meilleure nutrition, ces plantes ont certainement une capacité accrue à lutter contre les métaux lourds dans les différents organes comparativement aux plantes du sol brut L1. Celles-ci ont tout de même révélé des taux de polyphénol significativement supérieurs aux autres traitements durant toute la durée de l'expérience. L'augmentation de la production de polyphénol dans les feuilles nous prouve que la plante s'efforce de répondre à un stress oxydatif élevé (Noor et al. 2022). Celui-ci est probablement causé par les manques nutritionnels et non par la présence directe des métaux lourds puisque peu de métaux lourds ont été détectés au sein des feuilles. Par ailleurs la production de polyphénol n'a pas été corrélée avec une augmentation de flavonoïdes et n'est pas provoquée en réponse à une augmentation de MDA qui est un marqueur de stress oxydatif. Si l'augmentation des teneurs en polyphénols est précoce, il peut être postulé qu'elle soit suffisante que pour éviter à un stress oxydatif de se manifester, ce qui expliquerait une teneur faible en MDA.

Enfin, il est important de souligner que les lignes R3-5 sont beaucoup plus protégées par des arbres. Grâce à la meilleure rétention d'eau de leur sol, les *Miscanthus* se localisant à cet endroit sont moins propices à développer un stress hydrique comparativement aux plantes de la zone clairière. Par ailleurs on peut observer que les *Miscanthus* de R2 ont eux aussi accumulé des quantités élevées d'ETM au sein de leurs rhizomes. Ils semblent toutefois se porter morphologiquement mieux que les plantes installées sur L1. Mais nous ne pouvons pas affirmer que les plantes de R2 se portent mieux grâce à leur localisation en zone recolonisée et non grâce à leur nutrition également optimisée comparativement aux *Miscanthus* de L1. En effet, si nous regardons la différence entre les *Miscanthus* de ces 2 sols, ceux de R2 ne présentent pas de carence en potassium et leurs taux en soufre sont améliorés. De même leurs taux d'azote semblent optimisés malgré le rapport C/N très élevé de ce sol. Pour savoir à quel point le facteur « zone » peut avoir un impact, il aurait été intéressant de pouvoir comparer les plantes de L1 avec celle de L3-4. Cependant, la contamination de ce sol est beaucoup plus faible voir même insignifiante. Il est donc compliqué de conclure que seule la nutrition améliorée notamment grâce au compost ou que seule la protection ombragée entre L1, R2 et R3-5 est la cause de leur importante différence de développement. Il n'est d'ailleurs pas judicieux d'affirmer que ces processus ont agi seul et non conjointement.

III. Impacts des propriétés du substrat sur la photosynthèse

Au vu de ces résultats nous aurions pu nous attendre à voir une photosynthèse moins efficace pour les plantes poussant en L1 comparé à celles de L7. Or selon les résultats de l'IRGA ce n'est pas le cas, globalement il y a peu de différence observée entre les plantes poussant sur les différents sols. Lors du mois d'août, ce sont les plantes en L7 qui montrent une baisse de photosynthèse. Ce résultat se reflète également dans le dosage des teneurs en sucre qui a montré une diminution de la production du sucre lors du mois d'août dans les plantes de L7.

La photosynthèse du *Miscanthus* est une photosynthèse en C4. Elle est toutefois considérée comme sensible aux métaux lourds (Spence et al. 2014; Jiang et al. 2018; Rusinowski et al. 2019). Une inhibition de la photosynthèse peut être due soit à des causes stomatiques en lien avec une réduction de la conductance, soit à des causes non stomatiques en lien avec l'altération du cycle de calvin ou de la capture d'énergie lumineuse suite à une modification structurelle des chloroplastes (Marsic et al. 2018).

La conductance stomatique a été évaluée via l'IRGA ainsi que par le poromètre. Toutefois, les 2 appareils ont présenté des résultats contradictoires. Les différences observées dans les mesures de conductance stomatique avec l'IRGA et le poromètre peuvent s'expliquer par les caractéristiques spécifiques de chaque méthode. Les conditions environnementales, telles que la température de l'air, l'humidité relative et le déficit de pression de vapeur, peuvent fortement affecter les mesures de conductance stomatique. Ces appareils nécessitent un calibrage rigoureux et leur utilisation sur le terrain peut s'avérer fastidieuse (Toro et al. 2019). Il est difficile d'évaluer quel a été le problème précis rencontré et quel appareil reflète le plus la réalité. Feng et al. (2012) soulignent par ailleurs que l'alimentation azotée de la plante peut avoir un impact sur la photosynthèse en assurant le maintien de l'ouverture des stomates.

Les valeurs de transpiration instantanée, de CO₂ intercellulaire ainsi que les valeurs de température foliaire nous renseignent indirectement sur la conductance stomatique. Ces paramètres tendent à montrer une bonne ouverture des stomates des plantes cultivées sur L7. Elles présentent une transpiration instantanée relativement élevée par rapport aux autres plantes. De même la température foliaire en L7 est significativement plus basse en juillet et en août en comparaison aux autres *Miscanthus* indiquant une meilleure régulation stomatique. Le *Miscanthus* est par ailleurs connu pour être une plante « anisohydrique », dont les stomates restent ouverts sous une large de conditions environnementales (Joo et al. 2017).

Les concentrations de CO₂ intercellulaire élevées dans les *Miscanthus* de L7 lors du mois d'août peuvent s'expliquer par la combinaison d'une importante ouverture stomatique mais une photosynthèse inefficace. Le CO₂ s'accumule dans l'espace intercellulaire des feuilles car son utilisation par le processus de photosynthèse est limitée. Cette limitation peut avoir plusieurs causes, telles qu'une modification structurale des chloroplastes ou une inhibition de l'activité Rubisco (Feki et al. 2021). La baisse de la photosynthèse de L7 lors du mois d'août serait donc plutôt de cause interne. Comme nous l'avons vu, ces plantes ne présentent pas de carence en nutriments. Elles n'ont pas non plus de phénomène de chlorose car leur taux de pigment photosynthétique est très bon. Ayant poussé sur un néosol plutôt que sur un sol brut, on ne s'attend pas à ce que ces plantes soient fortement contaminées. Soulignons néanmoins la présence de doses conséquentes d'arsenic dans ce néosol alors même que Hartley et al. (2009) et Jiang et al. (2018) ont montré qu'une accumulation chloroplastique d'arsenic avait des conséquences particulièrement néfastes sur la photosynthèse chez *Miscanthus*. En dépit de la présence d'arsenic dans le néosol, cet élément ne s'accumule pas dans la plante et il est donc difficile de lui attribuer l'inhibition de photosynthèse observée chez les plantes L7. La question demeure donc quant à l'origine de cette inhibition.

Il a fait chaud lors du mois de juillet et d'août et il y a eu peu de précipitations. Le sol L7 a la plus basse humidité résiduelle, seulement 2% d'eau. La disponibilité en eau pour ces plantes est certainement insuffisante pour répondre à leurs besoins. Normalement, le *Miscanthus* est une plante robuste car il développe un système racinaire profond et étendu permettant à la plante d'accéder à des réserves d'eau qui ne sont pas disponibles pour les plantes à racines superficielles (Congpeng et al. 2021). Cependant il est possible que le système racinaire des *Miscanthus* qui ont évolué sur le néosol se soit construit plus en surface afin d'éviter les contacts avec les métaux lourds. Une telle plasticité racinaire a déjà été rapportée dans cette espèce (Yao and Zhou 2024; Romantschuk et al. 2024). Dans ce cas, les plantes sont plus susceptibles de subir un stress hydrique. La production de ROS résultant de ce stress hydrique causerait des dégâts (perturbation des photosystèmes, altération des activités enzymatiques de la phase sombre) expliquant la baisse de photosynthèse. Une dégradation des membranes cellulaires pourrait également se produire ce qui expliquerait aussi les taux relativement élevés de MDA que nous avons retrouvés au sein de ces plantes puisque le MDA résulte de la peroxydation de lipides membranaires (Wang et al. 2023). A noter que la récolte

de la biomasse fraîche en juillet a été réalisée un peu plus tard que les analyses photosynthétiques (en raison d'un retard dans la livraison de la carboglace). Le stress ayant certainement déjà commencé à cette période pourrait expliquer les forts taux de MDA déjà présents en juillet.

Il est intéressant de signaler que les mesures prises en août à l'aide des appareils physiologiques ont été réalisées plus tôt dans la matinée par rapport aux mesures réalisées lors des autres mois. Nous savons que des paramètres comme la conductance stomatique et la fixation du CO₂ varient au cours de la photopériode et qu'il est préférable de toujours réaliser les mesures au même moment de la journée. Dans la pratique, lorsqu'on a un grand nombre de plantes à caractériser, il est parfois difficile de coordonner l'ensemble des mesures dans un laps de temps réduit. La conductance stomatique obéit à un rythme circadien et est maximale à la moitié de la photopériode. Toutefois une intensité lumineuse élevée peut provoquer une photo-inhibition à certaines heures de la journée. De même, lors de forte chaleur, les stomates se ferment pour réduire la perte d'eau limitant ainsi l'absorption de CO₂ et par conséquent une diminution des processus photosynthétiques (Suwannarut et al. 2023). Il est possible que ces processus étaient déjà enclenchés lorsque nous avons pris les mesures avec l'IRGA en juillet et en octobre (en fin de matinée), nous empêchant d'observer les potentielles différences entre les traitements. C'est en effet un des désavantages de ces appareils. Ils rendent compte d'une mesure à un moment précis qui peut ne pas refléter la réalité globale dans son évolution temporelle. Néanmoins, au vu des teneurs en sucre, significativement plus élevées lors du premier et dernier stade de développement dans les végétaux de L7 comparé à ceux des autres sols, on peut facilement supposer que la photosynthèse lors du mois de juillet et d'octobre était bien plus importante dans les plantes en L7 par rapport aux plantes poussant sur les sols bruts même si cela n'a pas été détecté par l'IRGA.

Une exposition du *Miscanthus* en L7 en août à un stress hydrique a pu interférer avec sa croissance et donc sa production de biomasse. Nous pouvons d'ailleurs remarquer une diminution de sa croissance puisque lors de la mesure de sa hauteur en octobre, les *Miscanthus* de L7 sont plus petits que ceux des sols amendés et pratiquement de même taille que ceux poussant en R2, alors qu'ils les surpassaient tous lors des mois précédents. La même observation est valable pour le nombre de feuilles. Par conséquent, il est difficile d'affirmer que la croissance des plantes en R3-5 n'est pas du tout affectée par les métaux lourds, car leur hauteur est comparable à celle de L7. Cette comparaison est critiquable par le fait que les plantes en L7 ont également été affectées par un stress, ce qui en fait un repère moins fiable pour évaluer l'impact des métaux lourds.

IV. Accumulations des métaux lourds dans la biomasse de *Miscanthus*

Nous avons retrouvé des concentrations relativement élevées d'arsenic dans le néosol. Étant donné la configuration de ce sol, formant une butte de 70 cm de hauteur, il est possible que, depuis quatre ans, des métaux lourds ou des métalloïdes aient migré vers la surface par capillarité ou par absorption via les racines des plantes, suivie de leur transport vers les parties aériennes et leur retour à la surface du sol lors de la sénescence. Le fait que seul l'arsenic soit présent en concentrations plus importantes pourrait s'expliquer par une plus grande homogénéité de cet élément sur l'ensemble du terrain, contrairement au plomb et au zinc, qui semblent être plus concentrés au nord de notre site. Il est également à noter que contrairement aux cations, l'arsenic qui est présent dans le sol sous forme d'arsenate chargé négativement est plus mobile lorsque le pH augmente, nos sols étant caractérisés par un pH élevé (Huslina et al. 2024).

L'arsenic a potentiellement rendu le néosol un peu moins propice à la culture des *Miscanthus*. Bien qu'il ne soit certainement pas la cause directe du stress observé en août sur ces plantes, car il n'est pas présent

uniquement ce mois-là, il est cependant possible que l'arsenic ait eu un impact global. Malgré cela, il reste très intéressant d'observer qu'un unique apport de compost de déchets verts lors de l'implantation permet d'améliorer la croissance ainsi que la physiologie des plantes sur un terrain contaminé comme celui des lignes R3-5. Cette découverte est assez encourageante dans le but de revaloriser des friches industrielles pour la création de biomasse énergétique. Elle confirme les données récentes de Ofori-Agyemang et al. (2024) selon lesquelles un amendement adéquat permet de stimuler la croissance tout en limitant l'absorption d'ETM.

Pour produire de l'énergie à partir de biomasse de *Miscanthus*, la manière la plus favorable est la combustion des tiges (Lanzerstorfer 2019). Il est donc préférable que cette biomasse présente de faibles teneurs en métaux lourds. Heureusement, en fin de culture, les tiges des *Miscanthus* poussant sur le sol contaminé ne semblent pas présenter de niveau préoccupant d'ETM. Par conséquent il ne devrait pas avoir de problèmes pour les utiliser dans un but énergétique. Il faut toutefois être prudent car la combustion de biomasse contaminée peut libérer les métaux absorbés dans l'atmosphère, posant des risques pour la santé humaine et l'environnement. Les métaux lourds comme le plomb et le cadmium peuvent être émis sous forme de particules fines lors de la combustion, ceux-ci peuvent interagir avec les protéines et les enzymes du corps humain, provoquant un empoisonnement chronique (Lanzerstorfer 2019; Yao et al. 2023). La biomasse que nous avons analysé sur le site est parfaitement compatible avec une utilisation à des fins énergétiques.

Comme pour les tiges, les feuilles ne semblent pas non plus avoir accumulé d'importantes quantités de métaux lourds. Le plomb, par exemple, n'a été détecté dans aucune feuille et tige des *Miscanthus* de R3-5 analysé lors de saison 2023, alors que ce sol présentait de très fortes concentrations de cet élément. Le plomb n'a été détecté qu'en très faible quantité dans un *Miscanthus* poussant sur L1 en octobre. Toutefois, l'absence de reproductibilité de cette observation nous empêche de conclure définitivement qu'il s'agit d'une véritable accumulation et non d'un artefact. La même observation est valable pour le vanadium et l'arsenic, d'autant plus que l'arsenic n'a même pas été rencontré au sein des rhizomes, alors que les *Miscanthus* semblent accumuler plus dans cette partie que dans les parties aériennes.

Deux paramètres, que nous n'avons pas pu prendre en considération dans notre étude, sont susceptibles d'expliquer cette faible accumulation d'ETM au niveau des parties aériennes. La capacité d'une plante à absorber un élément est fonction de la biodisponibilité de ce dernier. L'élément peut être présent au niveau du sol, et ne pas être « disponible » pour la plante, parce qu'il est présent sous une forme précipitée ou trop fortement retenu par les particules du sol (argile, oxydes, matière organique). Nous n'avons pas pu prendre en compte la biodisponibilité dans notre étude car les méthodes d'analyse en routine ne sont applicables que pour les sols présentant de faibles teneurs en carbonate, alors que nos teneurs en carbone sont trop élevées (Degryse et al. 2003). Des études réalisées par d'autres chercheurs ont montré que dans de très nombreux cas, la biodisponibilité est très limitée et que le *Miscanthus* n'a pas toujours la capacité d'absorber les éléments (Pavel et al. 2014; Kocoń and Jurga 2017; Nsanganwimana et al. 2021).

Un second facteur explicatif est que même si l'absorption a lieu, la plupart des plantes ont tendance à limiter la translocation des éléments toxiques vers les parties aériennes afin de protéger les organes photosynthétiques et les structures reproductrices (Islam et al. 2024). L'importance de cette « séquestration racinaire » dépend des espèces et des éléments, mais différents auteurs ont souligné que le *Miscanthus* était performant à cet égard (Kocoń and Matyka 2012; Nsanganwimana et al. 2015; Pidlisnyuk et al. 2018, 2019; Hechelski et al. 2020; Deans et al. 2023). Pour rappel, nous n'avons pas été en mesure, compte tenu du stade de développement de nos plantes sur le terrain, d'avoir accès au système racinaire. Rien ne nous interdit de penser qu'une accumulation d'ETM peut avoir eu lieu à ce niveau et le fonctionnement du système racinaire peut en avoir été altéré. En outre, il est bien établi que les racines envoient vers les parties aériennes une

large gamme de messages chimiques, dont de nombreuses phytohormones, qui peuvent influencer de façon déterminant la physiologie de ces parties aériennes (Ghanem et al. 2011) : ainsi donc, une altération de la photosynthèse peut résulter d'une accumulation racinaire de métaux toxiques, même si ces métaux toxiques ne sont pas transportés vers les feuilles, pour peu que les racines produisent des hormones de stress comme l'ABA et l'éthylène dont l'impact sur la photosynthèse est bien connu (Zhang et al. 2024).

Il est intéressant de noter que les rhizomes analysés ne sont pas dépourvus de métaux lourds et que leur teneur a tendance à être plus élevée dans le cas des sols R3-5 et R2. Ainsi, pour le plomb, dans les rhizomes des plantes de R3-5, L1 et R2 on retrouve en moyenne une concentration de 7,06, 2,36 et 5,31 mg/kg. Le facteur de bioconcentration (BCF) des échantillons de rhizomes de R3-5, calculé sur base de la concentration absorbée par les différentes parties de la plante par rapport à la concentration contenue dans le sol, est de $0,028 \pm 0,014$. Bien que ce chiffre soit assez faible, ce résultat est tout de même prometteur dans le cas d'une mise en place de *Miscanthus x giganteus* pour assainir les sols contaminés (Nsanganwimana et al. 2015; Pidlisnyuk et al. 2018, 2019). L'origine des métaux présents dans les rhizomes mériterait d'être analysée de façon plus approfondie. Le rhizome présente des racines et les métaux peuvent donc venir d'une absorption par ces dernières. Mais le rhizome accumule également les réserves mobilisées depuis les parties aériennes en cours de sénescence et cela peut très bien concerner des ETM (Laval-Gilly et al. 2017). Les conséquences d'une telle accumulation sur les capacités de redémarrage de la croissance l'année suivante n'a jamais fait l'objet d'étude à notre connaissance.

Concernant le zinc, peu importe l'organe il est présent en plus grande concentration au sein des plantes que tous les autres ETM. Cette observation s'explique puisque le Zn est un élément essentiel de la nutrition des plantes. Il est impliqué dans de nombreux processus métaboliques en tant que cofacteur enzymatique. Une accumulation trop importante de zinc peut toutefois avoir des conséquences néfastes sur le fonctionnement photosynthétique du *Miscanthus* (Andrejić et al. 2018). La concentration de zinc est assez élevée dans les tiges en juillet mais diminue fortement le reste de la saison. Cela pourrait peut-être être dû à un effet de dilution dans un volume de tissu végétal plus important puisque la tige s'allonge (Nsanganwimana et al. 2015) ou bien à une translocation du zinc vers d'autres organes notamment les rhizomes (Cadoux et al. 2012). Le BCF du zinc chez nos plantes est généralement compris entre 0,03 et 0,07 sur l'entièreté de la saison avec des valeurs semblables entre les différents organes que nous avons observés. Les recherches de Nsanganwimana et al. (2015) et de Pidlisnyuk et al. (2018 ; 2019) mentionnent des BCF pour le zinc compris entre 0,05 et 0,08 pour les feuilles et tiges, ce qui est semblable à nos données, et de BCF racinaire pouvant aller de 0,12 à 0,2 dans des sols contaminés de 800 et 1000 mg/kg. Un BCF de 0,12 signifierait une absorption possible de 97 mg/kg dans les *Miscanthus* de L1 et de 105 mg/kg dans ceux de R3-5. Ces résultats sont, à l'instar de ceux du plomb, intéressants pour une mise en place d'une phytostabilisation via *Miscanthus x giganteus* sur notre terrain.

Notre espèce végétale est également capable d'absorber d'importantes quantités de cadmium. Néanmoins, il s'accumule, lui aussi, généralement plus dans les racines que dans les pousses et son transfert vers les parties aériennes est limité (Lux et al. 2011; Nsanganwimana et al. 2015). Le rapport de concentration entre les parties aérienne et souterraine appelé facteur de translocation (TF) du Cd est encore plus faible que celui du zinc et du plomb (Nsanganwimana et al. 2014)., ce qui peut expliquer pourquoi nous ne l'avons retrouvé dans aucun de nos échantillons.

Le fait que les *Miscanthus x giganteus* accumulent peu d'ETM dans leurs parties aériennes explique la similarité des concentrations en phytochélatine et en glutathion total retrouvées dans les feuilles des *Miscanthus* entre les différents types de sol. Puisqu'il n'y a pas plus de métaux lourds dans les feuilles des

sols contaminés par rapport au néosol, il n'y a pas lieu de produire des phytochélatines pour les séquestrer à cet endroit. De façon générale (et sauf exception), les teneurs en phytochélatines sont plus faibles au niveau des feuilles qu'au niveau des racines chez la plupart des espèces (Ashaolu et al. 2023). Puisque c'est au niveau des racines que se réalise la séquestration racinaire, il est logique que les mécanismes protecteurs impliquant une chélation suivie d'une séquestration vacuolaire ait lieu dans les racines (Faizan et al. 2024).

Les concentrations en ETM sont nettement plus élevées au niveau des feuilles que des tiges. Cela signifie que, une fois passée la « barrière » racinaire, les ETM auraient tendance à être passivement transportés par le flux transpiratoire pour s'accumuler au niveau des surfaces évapotranspirantes. Plusieurs auteurs ont mentionné que la distribution des ETM entre les feuilles d'âges différents pouvait ne pas être uniforme. Certaines feuilles (et c'est souvent le cas des feuilles les plus âgées) accumulent des ETM et entrent plus ou moins rapidement en sénescence (Barbosa et al. 2015). Dans une optique de phytomanagement, cela constitue un incontestable problème puisque ces feuilles retombent sur le sol avant la récolte hivernale de la tige (Amougou et al. 2011).

Les feuilles mortes des plantes de la saison 2022, ont montré une plus grande accumulation de plomb avec une moyenne de 1,1 mg/kg. Bien que les taux restent très faibles, ce résultat est désavantageux pour l'installation de phytoremédiation puisque les métaux retombent à la surface du sol. Le zinc tout comme certains éléments essentiels tels que le phosphore, le soufre, le magnésium et le potassium ont vu leurs concentrations fortement diminuées au cours de la saison et sont en faibles concentrations dans les feuilles sénescentes. Cela peut être en raison d'une remobilisation vers les rhizomes. Cadoux et al. (2012) ont montré que les concentrations d'éléments essentiels commençaient à réduire dans les parties aériennes au cours du mois de septembre chez *Miscanthus x giganteus*. Cependant le recyclage des nutriments se produit non seulement via la translocation vers le rhizome mais aussi en grande partie grâce à la chute de feuilles et donc le retour des éléments dans le sol. Ceci explique que les concentrations de zinc sont toujours très élevées dans les feuilles mortes de 2022. Il serait intéressant d'observer les concentrations des rhizomes tout au long de la culture et ainsi que les feuilles sénescentes afin d'avoir une meilleure idée de la quantité d'éléments remobilisés et à quel point cela pourrait compromettre la mise en place d'une phytoremédiation par *Miscanthus x giganteus*.

Conclusion et perspectives

Notre étude a démontré que l'amendement du sol contaminé par des éléments traces métalliques (ETM) avec du compost de déchets verts améliore significativement la nutrition et la croissance des *Miscanthus x giganteus*. Les sols amendés présentent une meilleure capacité d'échange cationique (CEC), un pH et un rapport C/N plus favorable. Les *Miscanthus* cultivés sur ces sols montrent une croissance qui ne semble pas être perturbée par la présence des ETM. Ces plantes ont des teneurs plus élevées de calcium, de potassium, et de soufre, ainsi qu'une potentielle meilleure gestion du stress oxydatif, comparativement aux plantes qui poussent sur un sol avec contamination similaire mais sans apport de compost.

Le facteur limitant la croissance de *Miscanthus x giganteus* et donc la production de biomasse semble principalement être causé par un manque en nutriments essentiels notamment l'azote, le potassium, le soufre et le calcium. Cette carence pourrait être causée indirectement par les ETM. Ils peuvent concurrencer les éléments majeurs au niveau des transporteurs racinaires mais aussi ils pourraient avoir un impact important sur les micro-organismes du sol ce qui perturberait le cycle de nutriment. Dans le futur, une étude de l'activité biologique du sol telle que l'activité uréase, hydrolase et phosphatase ainsi qu'une estimation de la biomasse bactérienne pourrait être envisagée.

Les ETM, notamment le plomb et le zinc, s'accumulent plus dans les rhizomes que dans les parties aériennes. Leur translocation vers les feuilles et tiges est limitée permettant une utilisation sécurisée de la biomasse pour des fins bioénergétiques. Une faible teneur en ETM au niveau des parties aériennes peut être causée par une faible biodisponibilité des ETM au niveau du substrat et/ou par une séquestration racinaire.

L'apport de compost de déchets verts pourrait être un boost afin d'améliorer les caractéristiques physico-chimiques du sol ainsi que la vie microbienne. Ceci permettrait d'assurer une culture rentable en biomasse. Il serait toutefois intéressant de comparer nos *Miscanthus* avec des *Miscanthus* cultivés sur un champ éloigné assuré d'être non contaminé. Cela nous permettrait d'affirmer avec certitude que les *Miscanthus* sont capables de produire une biomasse comparable sur un sol contaminé par rapport à un sol où ils ne seraient pas en contact avec des ETM. Cette méthode présente néanmoins des inconvénients tels que des différences entre les conditions météorologiques de chaque terrain, des différences importantes dans les caractéristiques physico-chimiques du sol mais aussi une potentielle différence entre l'âge des cultures. C'est d'ailleurs pour ces raisons que nous avons préféré travailler avec le néosol.

La mise en place de *Miscanthus x giganteus* pourrait être utilisée dans le cadre d'une phytostabilisation. Il serait très intéressant à l'avenir de faire analyser des échantillons de racines afin d'évaluer la potentielle absorption et accumulation des ETM au sein de celles-ci.

Si les *Miscanthus* ont la capacité de restaurer les sols contaminés, il convient de spécifier que les ETM sont certainement séquestrés en majorité dans les organes souterrains. Si ces organes ne sont pas complètement retirés du sol, les métaux lourds accumulés resteront encore dans le sol et continueront de menacer la sécurité de l'environnement (Congpeng et al. 2021). Il faudra dès lors envisager des stratégies afin d'extraire entièrement les racines du sol en fin de culture. Un apport de composés chélatants (EDDS ou EDTA) pourrait être tenté afin d'augmenter la biodisponibilité des métaux lourds si l'objectif poursuivi est de procéder à une phytoextraction.

En conclusion, si les caractéristiques et l'activité biologique du sol permettent un apport nutritif suffisant, les *Miscanthus x giganteus* pourraient prospérer normalement sur le sol malgré la présence d'ETM. Ce qui permettrait la culture de *Miscanthus* sur des friches industrielles et la revalorisation de ces terrains en Wallonie. De plus, les *Miscanthus x giganteus* offriraient une solution potentielle pour assainir le sol via une phytoremédiation par stabilisation.

Bibliographies

- Adnan M, Xiao B, Ali MU, et al (2024) Heavy metals pollution from smelting activities: A threat to soil and groundwater. *Ecotoxicol Environ Saf* 274:116189. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116189>
- Adriano DC (2001) *Trace Elements in Terrestrial Environments*. Springer, New York, NY
- Ali H, Khan E, Sajad MA (2013) Phytoremediation of heavy metals—Concepts and applications. *Chemosphere* 91:869–881. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.075>
- Al-Obaidi JR, Jamaludin AA, Rahman NA, Ahmad-Kamil EI (2024) How plants respond to heavy metal contamination: a narrative review of proteomic studies and phytoremediation applications. *Planta* 259:103. <https://doi.org/10.1007/s00425-024-04378-2>
- Alsafran M, Usman K, Ahmed B, et al (2022) Understanding the Phytoremediation Mechanisms of Potentially Toxic Elements: A Proteomic Overview of Recent Advances. *Front Plant Sci* 13:. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.881242>
- Amougou N, Bertrand I, Machet J-M, Recous S (2011) Quality and decomposition in soil of rhizome, root and senescent leaf from *Miscanthus x giganteus*, as affected by harvest date and N fertilization. *Plant Soil* 338:83–97. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0443-x>
- Andrejić G, Gajić G, Prica M, et al (2018) Zinc accumulation, photosynthetic gas exchange, and chlorophyll a fluorescence in Zn-stressed *Miscanthus x giganteus* plants. *Photosynthetica* 56:1249–1258. <https://doi.org/10.1007/s11099-018-0827-3>
- Asgher M, Rehaman A, Nazar ul Islam S, Khan NA (2024) Multifaceted roles of silicon nano particles in heavy metals-stressed plants. *Environ Pollut* 341:122886. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122886>
- Ashaolu TJ, Lee CC, Ashaolu JO, et al (2023) Metal-binding peptides and their potential to enhance the absorption and bioavailability of minerals. *Food Chem* 428:136678. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136678>
- Baize D (2000) Teneurs totales en « métaux lourds » dans les sols français : résultats généraux du programme ASPITET. *Courr Environ Inra* 39:
- Barbosa B, Boléo S, Sidella S, et al (2015) Phytoremediation of Heavy Metal-Contaminated Soils Using the Perennial Energy Crops *Miscanthus* spp. and *Arundo donax* L. *Bioenergy Res* 8:1500–1511. <https://doi.org/10.1007/s12155-015-9688-9>
- Beale CV, Long SP (1997) Seasonal dynamics of nutrient accumulation and partitioning in the perennial C4-grasses *Miscanthus x giganteus* and *Spartina cynosuroides*. *Biomass Bioenergy* 12:419–428. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(97\)00016-0](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(97)00016-0)
- Beale CV, Morison JIL, Long SP (1999) Water use efficiency of C4 perennial grasses in a temperate climate. *Agric For Meteorol* 96:103–115. [https://doi.org/10.1016/S0168-1923\(99\)00042-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1923(99)00042-8)
- Bert V, Sahraoui AH, Leyval C, et al (2013) Les phytotechnologies appliquées aux sites et sols pollués: Etat de l'art et guide de mise en oeuvre
- Bourrelier PH, Berthelin J, Pedro G (1998) Contamination des sols par les éléments en traces : les risques et leur gestion. édition Tec et doc - Lavoisier, Paris

- Brust GE (2019) Chapter 9 - Management Strategies for Organic Vegetable Fertility. In: Biswas D, Micallef SA (eds) Safety and Practice for Organic Food. Academic Press, pp 193–212
- Cadoux S, Riche AB, Yates NE, Machet J-M (2012) Nutrient requirements of *Miscanthus x giganteus*: Conclusions from a review of published studies. Biomass Bioenergy 38:14–22. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.01.015>
- Cao Y, Ma C, Yu H, et al (2023) The role of sulfur nutrition in plant response to metal(loid) stress: Facilitating biofortification and phytoremediation. J Hazard Mater 443:130283. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130283>
- Cereser C, Guichard J, Draï J, et al (2001) Quantitation of reduced and total glutathione at the femtomole level by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection: application to red blood cells and cultured fibroblasts. J Chromatogr B Biomed Sci App 752:123–132. [https://doi.org/10.1016/s0378-4347\(00\)00534-x](https://doi.org/10.1016/s0378-4347(00)00534-x)
- Chen L, Beiyuan J, Hu W, et al (2022) Phytoremediation of potentially toxic elements (PTEs) contaminated soils using alfalfa (*Medicago sativa* L.): A comprehensive review. Chemosphere 293:133577. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133577>
- Chong C (2005) Experiences with Wastes and Composts in Nursery Substrates. HortTechnology 15:. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.15.4.0739>
- Chou C-H (2009) Miscanthus plants used as an alternative biofuel material: The basic studies on ecology and molecular evolution. Renew Energy 34:1908–1912. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2008.12.027>
- Chung J-H, Kim D-S (2012) Miscanthus as a potential bioenergy crop in East Asia. J Crop Sci Biotechnol 15:65–77. <https://doi.org/10.1007/s12892-012-0023-0>
- Cipullo S, Snapir B, Tardif S, et al (2018) Insights into mixed contaminants interactions and its implication for heavy metals and metalloids mobility, bioavailability and risk assessment. Sci Total Environ 645:662–673. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.179>
- Congpeng W, Yingzhen K, Ruibo H, Gongke Z (2021) Miscanthus: A fast-growing crop for environmental remediation and biofuel production. GCB Bioenergy 13:58–69. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12761>
- De Vos CHR, Vonk MJ, Vooijs R, Schat H (1992) Glutathione Depletion Due to Copper-Induced Phytochelatin Synthesis Causes Oxidative Stress in *Silene cucubalus*. Plant Physiol 98:853–858
- Deans I, Stewart DI, Jones J, et al (2023) Uptake and speciation of Zn and Pb by *Miscanthus* grown in contaminated soils. J Hazard Mater 445:129899. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129899>
- Degryse F, Broos K, Smolders E, Merckx R (2003) Soil solution concentration of Cd and Zn can be predicted with a CaCl₂ soil extract. Eur J Soil Sci 54:149–158. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2389.2003.00503.x>
- Deneux-Mustin S, Roussel-Debe S, Musti C, Henne P (2003) Mobilité et transfert racinaire des éléments en traces : influence des micro-organismes du sol - Sylvie Deneux-mustin, Sylvie Roussel-debet, Christian Mustin, Pascale Henner, Colette Munier-lamy, C. TEC & DOC, Paris
- Dumas JBA (1831) Procédés de l'analyse organique. Ann Chim Phys 47:198–205
- Duong T, Penfold C, Marschner P (2012) Differential Effects of Composts on Properties of Soils with Different Textures. Biol Fertil Soils 48:. <https://doi.org/10.1007/s00374-012-0667-4>

- Evangelou MWH, Conesa HM, Robinson BH, Schulin R (2012) Biomass Production on Trace Element–Contaminated Land: A Review. *Environ Eng Sci* 29:823–839. <https://doi.org/10.1089/ees.2011.0428>
- Faizan M, Alam P, Hussain A, et al (2024) Phytochelatins: Key Regulator against Heavy Metal Toxicity in Plants. *Plant Stress* 11:100355. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100355>
- Favas PJC, Pratas J, Varun M, et al (2014) Phytoremediation of Soils Contaminated with Metals and Metalloids at Mining Areas: Potential of Native Flora. In: *Environmental Risk Assessment of Soil Contamination*. IntechOpen
- Feki K, Tounsi S, Mrabet M, et al (2021) Recent advances in physiological and molecular mechanisms of heavy metal accumulation in plants. *Environ Sci Pollut Res* 28:64967–64986. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16805-y>
- Feng X, Sun X, Zhou W, et al (2021) The effects of green waste compost on soil N, P, K, and organic matter fractions in forestry soils: elemental analysis evaluation. *RSC Adv* 11:31983–31991. <https://doi.org/10.1039/D1RA04986K>
- Feng XP, Chen Y, Qi YH, et al (2012) Nitrogen enhanced photosynthesis of *Miscanthus* by increasing stomatal conductance and phosphoenolpyruvate carboxylase concentration. *Photosynthetica* 50:577–586. <https://doi.org/10.1007/s11099-012-0061-3>
- Fowler P, Mclauchlin A, Hall L (2003) *The Potential Industrial Uses of Forage Grasses Including Miscanthus*
- Gauthier G, Somer L (2013) *Guide pratique de la culture de miscanthus*
- Ghanem ME, Hichri I, Smigocki AC, et al (2011) Root-targeted biotechnology to mediate hormonal signalling and improve crop stress tolerance. *Plant Cell Rep* 30:807–823. <https://doi.org/10.1007/s00299-011-1005-2>
- Ghori N-H, Ghori T, Hayat MQ, et al (2019) Heavy metal stress and responses in plants. *Int J Environ Sci Technol* 16:1807–1828. <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02215-8>
- Giller KE, Witter E, Mcgrath SP (1998) Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review. *Soil Biol Biochem* 30:1389–1414. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(97\)00270-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(97)00270-8)
- Glick BR (2010) Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnol Adv* 28:367–374. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.02.001>
- Göhre V, Paszkowski U (2006) Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta* 223:1115–1122. <https://doi.org/10.1007/s00425-006-0225-0>
- Guru theinstrument (2021) How Infra Red(IR) Gas analyzer Work. In: *Instrum. GURU*. <https://theinstrumentguru.com/how-infra-redir-gas-analyzer-work/>. Accessed 23 Jun 2024
- Haider FU, Liqun C, Coulter JA, et al (2021) Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. *Ecotoxicol Environ Saf* 211:111887. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111887>
- Hansa A, Devi A, Upadhyay M, et al (2024) Toxicological implications of industrial effluents on plants: a review focusing on phytoremediation techniques. *Int J Environ Sci Technol* 21:2209–2224. <https://doi.org/10.1007/s13762-023-05012-6>

- Hartley W, Dickinson NM, Riby P, Lepp NW (2009) Arsenic mobility in brownfield soils amended with green waste compost or biochar and planted with *Miscanthus*. *Environ Pollut Barking Essex* 1987 157:2654–2662. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.05.011>
- Hasanuzzaman M, Nahar K, Anee TI, Fujita M (2017) Glutathione in plants: biosynthesis and physiological role in environmental stress tolerance. *Physiol Mol Biol Plants* 23:249–268. <https://doi.org/10.1007/s12298-017-0422-2>
- He S, Niu Y, Xing L, et al (2024) Research progress of the detection and analysis methods of heavy metals in plants. *Front Plant Sci* 15:. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1310328>
- Heath RL, Packer L (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys* 125:189–198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)
- Heaton EA, Dohleman FG, Miguez AF, et al (2010) Chapter 3 - *Miscanthus*: A Promising Biomass Crop. In: Kader J-C, Delseny M (eds) *Advances in Botanical Research*. Academic Press, pp 75–137
- Hechelski M, Louvel B, Dufrénoy P, et al (2020) Toward a New Way for the Valorization of *Miscanthus* Biomass Produced on Metal-Contaminated Soils Part 1: Mesocosm and Field Experiments. *Sustainability* 12:9370. <https://doi.org/10.3390/su12229370>
- Hénault-Ethier L (2016) *La phytoremediation*
- Hopkins WG (2003) *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur, Bruxelles
- Huslina F, Khudur LS, Shah K, et al (2024) Mine Site Restoration: The Phytoremediation of Arsenic-Contaminated Soils. *Environments* 11:99. <https://doi.org/10.3390/environments11050099>
- Huynh TMD (2009) Impacts des métaux lourds sur l'interaction plante/ ver de terre / microflore tellurique. Université de Paris
- Islam M, Saxena N, Sharma D (2024) Phytoremediation as a green and sustainable prospective method for heavy metal contamination: a review. *RSC Sustain* 2:1269–1288. <https://doi.org/10.1039/D3SU00440F>
- Jiang H, Zhao X, Fang J, Xiao Y (2018) Physiological responses and metal uptake of *Miscanthus* under cadmium/arsenic stress. *Environ Sci Pollut Res* 25:28275–28284. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2835-z>
- Joo E, Zeri M, Hussain Z, et al (2017) Enhanced evapotranspiration was observed during extreme drought from *Miscanthus*, opposite of other crops. *GCB Bioenergy* 9:. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12448>
- Jørgensen U (1997) Genotypic variation in dry matter accumulation and content of N, K and Cl in *Miscanthus* in Denmark. *Biomass Bioenergy* 12:155–169. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(97\)00002-0](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(97)00002-0)
- Jorjani S, PehliVan Karakaş F (2024) Physiological and Biochemical Responses to Heavy Metals Stress in Plants. *Int J Second Metab* 11:169–190. <https://doi.org/10.21448/ijsm.1323494>
- Kabata-Pendias A (2000) *Trace Elements in Soils and Plants*, 3rd edn. CRC Press, Boca Raton
- Khan A, Khan S, Khan MA, et al (2015) The uptake and bioaccumulation of heavy metals by food plants, their effects on plants nutrients, and associated health risk: a review. *Environ Sci Pollut Res* 22:13772–13799. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4881-0>

- Kherbani N (2011) Influence des métaux lourds sur la croissance des plantes
- Klopp H, Bly A, Nunes VLN, Mehan S (2024) Carbon to Nitrogen Ratio of Healthy Soils. <https://extension.sdstate.edu/carbon-nitrogen-ratio-healthy-soils>. Accessed 1 Aug 2024
- Kocoń A, Jurga B (2017) The evaluation of growth and phytoextraction potential of *Miscanthus x giganteus* and *Sida hermaphrodita* on soil contaminated simultaneously with Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn. *Environ Sci Pollut Res* 24:4990–5000. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8241-5>
- Kocoń A, Matyka M (2012) Phytoextractive potential of *Miscanthus x giganteus* and *Sida hermaphrodita* growing under moderate pollution of soil with Zn and Pb. *J Food Agric Environ* 10:
- Konica Minolta Optics (2009) CHLOROPHYLL METER SPAD-502Plus
- Kovačević D, Manojlović M, Čabilovski R, et al (2022) Digestate and Manure Use in Kohlrabi Production: Impact on Plant-Available Nutrients and Heavy Metals in Soil, Yield, and Mineral Composition. *Agronomy* 12:871. <https://doi.org/10.3390/agronomy12040871>
- Kumar K, Shinde A, Aeron V, et al (2022) Genetic engineering of plants for phytoremediation: advances and challenges. *J Plant Biochem Biotechnol* 32:. <https://doi.org/10.1007/s13562-022-00776-3>
- Lanzerstorfer C (2019) Combustion of *Miscanthus*: Composition of the Ash by Particle Size. *Energies* 12:178. <https://doi.org/10.3390/en12010178>
- Laval-Gilly P, Henry S, Mazziotti M, et al (2017) *Miscanthus x giganteus* Composition in Metals and Potassium After Culture on Polluted Soil and Its Use as Biofuel. *BioEnergy Res* 10:846–856. <https://doi.org/10.1007/s12155-017-9846-3>
- LeBlanc NR, Harrigan FC (2024) Green Waste Compost Impacts Microbial Functions Related to Carbohydrate Use and Active Dispersal in Plant Pathogen-Infested Soil. *Microb Ecol* 87:44. <https://doi.org/10.1007/s00248-024-02361-8>
- Leo M. Walsh and James D. Beaton (1973) Soil testing and plant analysis. Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin
- Lewandowski I, Clifton-Brown JC, Scurlock JMO, Huisman W (2000) *Miscanthus*: European experience with a novel energy crop. *Biomass Bioenergy* 19:209–227. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(00\)00032-5](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(00)00032-5)
- Linde-Laursen I (2004) Cytogenetic Analysis of *Miscanthus'Giganteus*, an Interspecific Hybrid. *Hereditas* 119:297–300. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1993.00297.x>
- Liu E, Terumasa T (2022) Effects of Applying Recycled Urban Green Waste Compost Made from Pruning Materials to Soil on the Growth of Plants. *J Soil Sci Plant Nutr* 22:1088–1097. <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00717-4>
- López-Hidalgo C, Meijón M, Lamelas L, Villedor L (2021) The rainbow protocol: A sequential method for quantifying pigments, sugars, free amino acids, phenolics, flavonoids and MDA from a small amount of sample. *Plant Cell Environ* 44:1977–1986. <https://doi.org/10.1111/pce.14007>
- Loué André (1993) Oligo-éléments: en agriculture, [2ème éd.]. SCPA (Société commerciale des potasses et de l'azote) : Nathan
- Lux A, Martinka M, Vaculik M, White PJ (2011) Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. *J Exp Bot* 62:21–37. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq281>

- Marsic NK, Vodnik D, Mikulic-Petkovsek M, et al (2018) Photosynthetic Traits of Plants and the Biochemical Profile of Tomato Fruits Are Influenced by Grafting, Salinity Stress, and Growing Season. *J Agric Food Chem* 66:5439–5450. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00169>
- Martínez-Blanco J, Lazcano C, Boldrin A, et al (2013) Assessing the Environmental Benefits of Compost Use-on-Land through an LCA Perspective. In: Lichtfouse E (ed) *Sustainable Agriculture Reviews: Volume 12*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 255–318
- Masciandaro G, Macci C, Peruzzi E, et al (2013) Organic matter-microorganism-plant in soil bioremediation: A synergic approach. *Rev Environ Sci Biotechnol* 12:. <https://doi.org/10.1007/s11157-013-9313-3>
- Mathieu A, Baize D, Raoul C, Daniau C (2008) Proposition de référentiels régionaux en éléments traces métalliques dans les sols : leur utilisation dans les évaluations des risques sanitaires. *Environ Risques Santé* 7:111–122
- Mazziotti M (2017) Impact des exsudats racinaires de *Miscanthus x giganteus* sur les microorganismes impliqués dans la bioremédiation d'un sol contaminé au benzo(a)anthracène. Microbiologie et Parasitologie. Université de Lorraine
- Mench M, Lepp N, Bert V, et al (2010) Successes and limitations of phytotechnologies at field scale: outcomes, assessment and outlook from COST Action 859. *J Soils Sediments* 10:1039
- Metson AJ (1956) Methods of chemical analysis for soil survey samples. *NZ Soil Bur Bull* 12:
- Michel jean (2010) *Le sol vivant - Bases de pédologie - Biologie des sols*. Librairie Eyrolles
- Moeen-ud-din M, Yang S, Wang J (2023) Auxin homeostasis in plant responses to heavy metal stress. *Plant Physiol Biochem* 205:108210. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.108210>
- Mubeen S, Ni W, He C, Yang Z (2023) Agricultural Strategies to Reduce Cadmium Accumulation in Crops for Food Safety. *Agriculture* 13:471. <https://doi.org/10.3390/agriculture13020471>
- Naz M, Benavides-Mendoza A, Tariq M, et al (2022) *CRISPR/Cas9* technology as an innovative approach to enhancing the phytoremediation: Concepts and implications. *J Environ Manage* 323:116296. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116296>
- Nebeská D, Trögl J, Ševců A, et al (2021) *Miscanthus x giganteus* role in phytodegradation and changes in bacterial community of soil contaminated by petroleum industry. *Ecotoxicol Environ Saf* 224:112630. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112630>
- Nebeská DP, Malinska H, Vaněk M, et al (2022) Nutrients deficiency affects *Miscanthus x giganteus* physiology and essential metals uptake more intensively than soil contamination. *Ind Crops Prod* 189:. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115845>
- Neukirchen D, Himken M, Lammel J, et al (1999) Spatial and temporal distribution of the root system and root nutrient content of an established *Miscanthus* crop. *Eur J Agron* 11:301–309. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(99\)00031-3](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(99)00031-3)
- Niekerk L-A, Gokul A, Basson G, et al (2024) Heavy metal stress and mitogen activated kinase transcription factors in plants: Exploring heavy metal-ROS influences on plant signalling pathways. *Plant Cell Environ* 47:2793–2810. <https://doi.org/10.1111/pce.14926>
- Ningombam L, Hazarika BN, Yumkhaibam T, et al (2024) Heavy metal priming plant stress tolerance deciphering through physiological, biochemical, molecular and omics mechanism. *South Afr J Bot* 168:16–25. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.02.032>

- Noor I, Sohail H, Sun J, et al (2022) Heavy metal and metalloid toxicity in horticultural plants: Tolerance mechanism and remediation strategies. *Chemosphere* 303:135196. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135196>
- Nsanganwimana F, Al Souki KS, Waterlot C, et al (2021) Potentials of *Miscanthus x giganteus* for phytostabilization of trace element-contaminated soils: *Ex situ* experiment. *Ecotoxicol Environ Saf* 214:112125. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112125>
- Nsanganwimana F, Pourrut B, Mench M, Douay F (2014) Suitability of *Miscanthus* species for managing inorganic and organic contaminated land and restoring ecosystem services. A review. *J Environ Manage* 143:123–134. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.04.027>
- Nsanganwimana F, Pourrut B, Waterlot C, et al (2015) Metal accumulation and shoot yield of *Miscanthus x giganteus* growing in contaminated agricultural soils: Insights into agronomic practices. *Agric Ecosyst Environ* 213:61–71. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.07.023>
- Ofori-Agyemang F, Waterlot C, Manu J, et al (2024) Plant testing with hemp and miscanthus to assess phytomanagement options including biostimulants and mycorrhizae on a metal-contaminated soil to provide biomass for sustainable biofuel production. *Sci Total Environ* 912:169527. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.169527>
- Oladoye PO, Olowe OM, Asemoloye MD (2022) Phytoremediation technology and food security impacts of heavy metal contaminated soils: A review of literature. *Chemosphere* 288:132555. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132555>
- Parc naturel Burdinale Mehaigne (2021) Le *Miscanthus* sur le territoire du parc naturel burdinale mehaigne- outil d'aide à la décision
- Parveen S, Bhat IUH, Khanam Z, et al (2021) Phytoremediation: In situ Alternative for Pollutant Removal from Contaminated Natural Media: A Brief Review. *Biointerface Res Appl Chem* 12:4945–4960. <https://doi.org/10.33263/BRIAC124.49454960>
- Pavel P-B, Puschenreiter M, Wenzel WW, et al (2014) Aided phytostabilization using *Miscanthus x giganteus* on heavy metal-contaminated soils. *Sci Total Environ* 479–480:125–131. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.01.097>
- Pereira B, Sonnet P (2007) Contamination Diffuse Du Sol Par Les Éléments Traces Métalliques
- Pereira B, Titeux H, Schneider A, Sonnet P (2012) Rapport final du projet POLLUSOL 2 - partie “sols”
- Pidlisnyuk V, Erickson L, Stefanovska T, et al (2019) Potential phytomanagement of military polluted sites and biomass production using biofuel crop *Miscanthus x giganteus*. *Environ Pollut* 249:330–337. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.018>
- Pidlisnyuk V, Stefanovska T, Lewis EE, et al (2014) *Miscanthus* as a Productive Biofuel Crop for Phytoremediation. *Crit Rev Plant Sci* 33:1–19. <https://doi.org/10.1080/07352689.2014.847616>
- Pidlisnyuk VV, Erickson LE, Trögl J, et al (2018) Metals uptake behaviour in plant during growth at the contaminated soil from the military site in Sliač, Slovakia. *Pol J Chem Technol* 20:1–7. <https://doi.org/10.2478/pjct-2018-0016>
- Promisc (2020) Protocole de mise en place d'un essai d'implantation de plants de miscanthus sur le site de Chimeuse Est

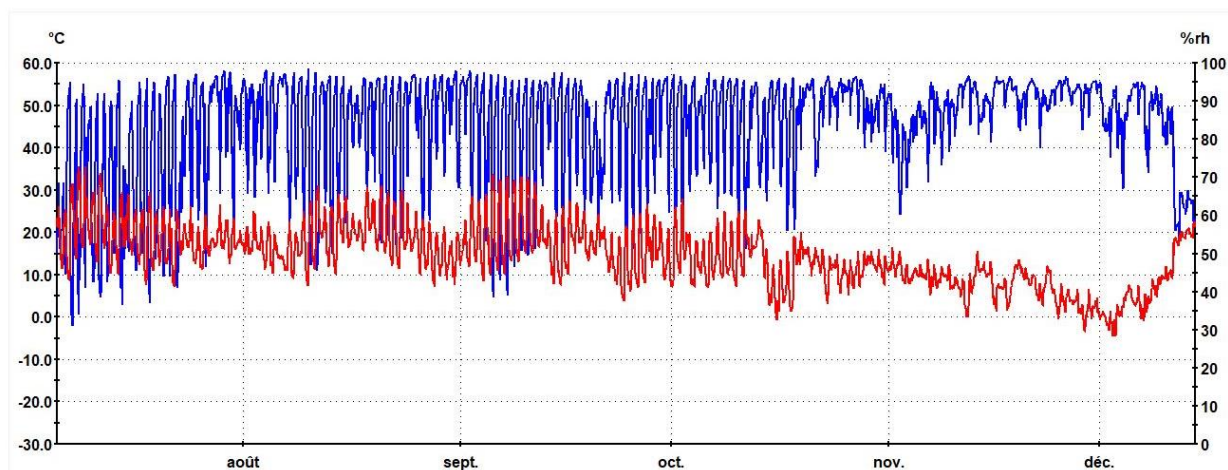
- Rai GK, Kumar P, Choudhary SM, et al (2023) Antioxidant Potential of Glutathione and Crosstalk with Phytohormones in Enhancing Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants. *Plants* 12:1133. <https://doi.org/10.3390/plants12051133>
- Reichenauer TG, Germida JJ (2008) Phytoremediation of Organic Contaminants in Soil and Groundwater. *ChemSusChem* 1:708–717. <https://doi.org/10.1002/cssc.200800125>
- Remon E (2006) Tolérance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques: vers de nouvelles méthodes de bio-dépollution. Université Jean Monnet
- Riyazuddin R, Nisha N, Ejaz B, et al (2021) A Comprehensive Review on the Heavy Metal Toxicity and Sequestration in Plants. *Biomolecules* 12:43. <https://doi.org/10.3390/biom12010043>
- Romantschuk L, Matviichuk N, Mozharivska I, et al (2024) Phytoremediation of Soils by Cultivation *Miscanthus x giganteus* and *Phalaris arundinacea* L. *Ecol Eng Environ Technol* 25:137–147. <https://doi.org/10.12912/27197050/186902>
- Rusinowski S, Krzyżak J, Clifton-Brown J, et al (2019) New *Miscanthus* hybrids cultivated at a Polish metal-contaminated site demonstrate high stomatal regulation and reduced shoot Pb and Cd concentrations. *Environ Pollut* 252:1377–1387. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.062>
- Sabreena, Hassan S, Bhat SA, et al (2022) Phytoremediation of Heavy Metals: An Indispensable Contrivance in Green Remediation Technology. *Plants* 11:1255. <https://doi.org/10.3390/plants11091255>
- Schäfer HJ, Greiner S, Rausch T, Haag-Kerwer A (1997) In seedlings of the heavy metal accumulator *Brassica juncea* Cu²⁺ differentially affects transcript amounts for γ -glutamylcysteine synthetase (γ -ECS) and metallothionein (MT2). *FEBS Lett* 404:216–220. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)00132-4](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)00132-4)
- Service public de Wallonie Principaux types de sols - État de l'environnement wallon. In: Etat L'environnement Wallon. http://etat.environnement.wallonie.be/cms/render/live/fr_BE/sites/eew/contents/indicatorsheets/PHYS4.html. Accessed 13 Apr 2023
- Shah V, Daverey A (2020) Phytoremediation: A multidisciplinary approach to clean up heavy metal contaminated soil. *Environ Technol Innov* 18:100774. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100774>
- Sharma N, Sharma G, Kour S, et al (2024) Unravelling the role of plant growth promoting rhizobacteria in boosting plant growth and phytoremediation of heavy metals. *Appl Soil Ecol* 199:105416. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2024.105416>
- Shen X, Dai M, Yang J, et al (2022) A critical review on the phytoremediation of heavy metals from environment: Performance and challenges. *Chemosphere* 291:132979. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132979>
- Singh S, Rajput V, Upadhyay S, Minkina T (2022) Arsenic Contamination in Rice Agro-ecosystems: Mitigation Strategies for Safer Crop Production. *J Plant Growth Regul* 42:. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10863-3>
- Siyar S, Sami S, Majeed A (2020) Heavy Metal Stress in Plants: Effects on Nutrients and Water Uptake. In: Faisal M, Saquib Q, Alatar AA, Al-Khedhairi AA (eds) *Cellular and Molecular Phytotoxicity of Heavy Metals*. Springer International Publishing, Cham, pp 89–98
- Spence AK, Boddu J, Wang D, et al (2014) Transcriptional responses indicate maintenance of photosynthetic proteins as key to the exceptional chilling tolerance of C4 photosynthesis in *Miscanthus x giganteus*. *J Exp Bot* 65:3737–3747. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru209>

- Stewart JR, Toma Y, Fernández FG, et al (2009) The ecology and agronomy of *Miscanthus sinensis*, a species important to bioenergy crop development, in its native range in Japan: a review. *GCB Bioenergy* 1:126–153. <https://doi.org/10.1111/j.1757-1707.2009.01010.x>
- Suwannarut W, Vialet-Chabrand S, Kaiser E (2023) Diurnal decline in photosynthesis and stomatal conductance in several tropical species. *Front Plant Sci* 14:. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1273802>
- Taiz L, Zeige E (2003) Plant Physiology's Best Paper Award. *Plant Physiology. Ann Bot* 91:750–751. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg079>
- Thakur M, Praveen S, Divte PR, et al (2022) Metal tolerance in plants: Molecular and physicochemical interface determines the “not so heavy effect” of heavy metals. *Chemosphere* 287:131957. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131957>
- Toro G, Flexas J, Escalona JM (2019) Contrasting leaf porometer and infra-red gas analyser methodologies: an old paradigm about the stomatal conductance measurement. *Theor Exp Plant Physiol* 31:483–492. <https://doi.org/10.1007/s40626-019-00161-x>
- Toulaïb K (2021) Réseau d'interactions d'une communauté végétale constituée de plantes maraîchères et de plantes phytoremédiantes. Paris
- Tremel-Schaub A, Feix I (2005) Contamination des sols: transferts des sols vers les plantes. EDP Sciences
- Tyagi S, Dhiman V, Dhiman V, et al (2024) Plant Defense Strategies and Biomarkers against Heavy Metal-Induced Stress: A Comprehensive Review. *ACS Agric Sci Technol* 4:. <https://doi.org/10.1021/acsagascitech.3c00271>
- Vanobberghen F (2010) La phytoremédiation en Wallonie : Evaluation du potentiel d'assainissement des sols contaminés en métaux lourds. Université Libre de Bruxelles Institut de Gestion de l'Environnement et d'Aménagement du Territoire
- Vengavasi K, Elumalai K, Srinivasavedantham V, et al (2024) Deficiency, Critical Threshold, and Sufficiency Levels for Hydroponic Supplementation of Major Nutrients for Evaluating Sugarcane under Controlled Conditions. *J Soil Sci Plant Nutr* 24:1002–1014. <https://doi.org/10.1007/s42729-023-01604-w>
- Wang B, Wang Y, Zhang J, et al (2023) ROS-induced lipid peroxidation modulates cell death outcome: mechanisms behind apoptosis, autophagy, and ferroptosis. *Arch Toxicol* 97:1439–1451. <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03476-6>
- Wang D, Portis AR, Moose SP, Long SP (2008) Cool C4 Photosynthesis: Pyruvate Pi Dikinase Expression and Activity Corresponds to the Exceptional Cold Tolerance of Carbon Assimilation in *Miscanthus × giganteus*. *Plant Physiol* 148:557–567. <https://doi.org/10.1104/pp.108.120709>
- Wang J, Aghajani Delavar M (2024) Modelling phytoremediation: Concepts, methods, challenges and perspectives. *Soil Environ Health* 2:100062. <https://doi.org/10.1016/j.seh.2024.100062>
- Wang Q, Li S, Li J, Huang D (2024) The Utilization and Roles of Nitrogen in Plants. *Forests* 15:1191. <https://doi.org/10.3390/f15071191>
- Winkler B, Mangold A, von Cossel M, et al (2020) Implementing miscanthus into farming systems: A review of agronomic practices, capital and labour demand. *Renew Sustain Energy Rev* 132:110053. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110053>

- Wiszniewska A, Hanus-Fajerska E, Muszyńska E, Ciarkowska K (2016) Natural Organic Amendments for Improved Phytoremediation of Polluted Soils: A Review of Recent Progress. *Pedosphere* 26:1–12. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(15\)60017-0](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)60017-0)
- Yang L, Wang J, Yang Y, et al (2022) Phytoremediation of heavy metal pollution: Hotspots and future prospects. *Ecotoxicol Environ Saf* 234:113403. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113403>
- Yang X, Reynolds WD, Drury CF, et al (2013) Organic carbon and nitrogen stocks in a clay loam soil 10 years after a single compost application. *Can J Soil Sci* 94:357–363. <https://doi.org/10.1139/CJSS2013-076>
- Yao S, Zhou B (2024) Enhancing phytoremediation of cadmium and arsenic in alkaline soil by *Miscanthus sinensis*: A study on the synergistic effect of endophytic fungi and biochar. *Sci Total Environ* 923:171458. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.171458>
- Yao W, Zhao Y, Chen R, et al (2023) Emissions of Toxic Substances from Biomass Burning: A Review of Methods and Technical Influencing Factors. *Processes* 11:853. <https://doi.org/10.3390/pr11030853>
- Zenk MH (1996) Heavy metal detoxification in higher plants--a review. *Gene* 179:21–30. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(96\)00422-2](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(96)00422-2)
- Zhang Y, Yang C, Liu S, et al (2024) Phytohormones-mediated strategies for mitigation of heavy metals toxicity in plants focused on sustainable production. *Plant Cell Rep* 43:99. <https://doi.org/10.1007/s00299-024-03189-9>
- Zhao F-J, Tang Z, Song J-J, et al (2022) Toxic metals and metalloids: Uptake, transport, detoxification, phytoremediation, and crop improvement for safer food. *Mol Plant* 15:27–44. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2021.09.016>
- Zhu Y, Gu H, Li H, et al (2024) Phytoremediation of contaminants in urban soils: a review. *Environ Chem Lett* 22:355–371. <https://doi.org/10.1007/s10311-023-01663-6>

Annexes

Annexe 1 : Conditions météorologiques du terrain d'expérimentation : Température (°C) en rouge et d'humidité relative (%rh) en bleu, enregistrées sur une période de cinq mois, d'août à décembre par la sonde HOBO sur le site Chimeuse Est



Annexe 2 : P-valeurs des Comparaisons Par Paires des Moyennes Ajustées (emmeans) entre les différents traitements de sol pour les analyses du sol

Comparaison entre les sols										
Analyses	L7 - (L3-4)	L7 - (R3-5)	L7 - L1	L7 - R2	(L3-4) - (R3-5)	(L3-4) - L1	(L3-4) - R2	(R3-5) - L1	(R3-5) - R2	L1 - R2
pH dans l'eau	0.2365	0.0887	0.7897	0.9994	0.9594	0.0436 *	0.1725	0.0156 *	0.0630	0.8888
pH dans KCl	0.2266	0.3418	0.8878	0.9794	0.9977	0.0584	0.1010	0.0938	0.1600	0.9960
Teneur en eau (log)	0.0561	0.0228 *	0.9378	0.9278	0.9752	0.1759	0.1849	0.0736	0.0776	1.0000
Rapport C/N	0.0019 **	0.9255	0.3951	0.5647	0.0139 *	<0.0001 ***	<0.0001 ***	0.0989	0.1718	0.9984
Ca (log)	0.5080	0.0193 *	0.9077	0.9182	0.2318	0.9290	0.9193	0.0722	0.0688	1.0000
K	0.0001 ***	0.2528	0.7267	0.9966	0.0008 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	0.0390 *	0.1556	0.8884
Mg (log)	0.9911	0.1962	0.5295	0.9243	0.1026	0.3161	0.7302	0.9287	0.5375	0.9256
Na	0.9187	0.7880	0.9351	0.0481 *	0.9976	1.0000	0.1673	0.9956	0.2596	0.1545
Bases échangeables (log)	0.5027	0.0287 *	0.9642	0.9561	0.3310	0.8473	0.8640	0.0776	0.0823	1.0000
CEC (log)	0.0097 **	0.0631	0.7249	0.5243	0.7431	0.0664	0.1150	0.3800	0.5661	0.9959

Annexe 3 : P-valeurs des Anova 1 pour les analyses des teneurs en éléments essentiels et éléments traces métalliques contenus dans le sol en fonction des différents traitements de sol

<i>Élément</i>	<i>~ Traitement</i>
<i>Al</i>	0.276
<i>As</i>	0.163
<i>Ba</i>	0.506
<i>Ca</i>	0.706
<i>Cd</i>	0.482
<i>Co</i>	0.0523
<i>Cr</i>	0.996
<i>Cu</i>	0.231
<i>Fe</i>	0.865
<i>K</i>	0.0578
<i>Mg</i>	0.0687
<i>Mn</i>	0.395
<i>Na</i>	0.757
<i>Ni</i>	0.671
<i>P</i>	0.31
<i>Pb</i>	0.0957
<i>S</i>	0.25
<i>Si</i>	0.646
<i>Sr</i>	0.412
<i>V</i>	0.712
<i>Zn</i>	0.743
<i>Zr</i>	0.32

Annexe 4 : P-valeurs des Comparaisons Par Paires des Moyennes Ajustées (emmeans) entre les différents sols pour les analyses morphologiques et physiologiques des *Miscanthus*

<i>Comparaison entre les sols</i>											
<i>Analyses</i>	<i>Stade de croissance</i>	<i>L7 - (L3-4)</i>	<i>L7 - (R3-5)</i>	<i>L7 - L1</i>	<i>L7 - R2</i>	<i>(L3-4) - (R3-5)</i>	<i>(L3-4) - L1</i>	<i>(L3-4) - R2</i>	<i>(R3-5) - L1</i>	<i>(R3-5) - R2</i>	<i>L1 - R2</i>
<i>Hauteur des Miscanthus</i>	1	0.0186 *	0.9999	<.0001 ***	0.0174 *	0.0130 *	0.0144 **	1.0000	<.0001 ***	0.0121 *	0.0154 *
	2	0.6395	0.8432	0.0023 **	0.7886	0.1402	0.0697	0.9990	0.0001 ***	0.2247	0.0392 *
	3	0.2715	0.4186	0.0780	0.9997	0.9984	0.0004 ***	0.3611	0.0010 **	0.5279	0.0521
<i>Longueur des feuilles</i>	1	0.2608	0.9833	0.0092 **	0.0148 *	0.5493	0.5487	0.6650	0.0340 *	0.0423 *	0.9997
	2	0.2274	0.9446	0.0059 **	0.4522	0.6297	0.4939	0.9909	0.0373 *	0.8740	0.2561
	3	0.6819	0.1175	0.0071 **	0.0310 *	0.7618	0.1478	0.3982	0.7503	0.9727	0.9750
<i>Nombre de feuilles</i>	1	0.9213	0.9213	0.0009 ***	0.0106 *	1.0000	0.0076 **	0.0738	0.0076 **	0.0738	0.8747
	2	0.9759	0.7301	0.1237	0.9759	0.9654	0.3460	1.0000	0.7301	0.9654	0.3460
	3	0.0996	0.3305	0.2214	0.7682	0.9625	0.0004 ***	0.6250	0.0026 **	0.9433	0.0181 *

<i>Indice de chlorophylle</i>	1	0.9391	0.9029	0.0066 **	0.2360	1.0000	0.0484 **	0.6655	0.0631	0.7338	0.5526
	2	<.0001 **	0.0632	<.0001 **	<.0001 **	0.1021	<.0001 **	0.8144	<.0001 **	0.0069 **	0.0002 **
	3	0.0001 **	0.0510	<.0001 **	<.0001 **	0.2861	<.0001 **	0.1113	<.0001 **	0.0005 **	0.0228 **
<i>Indice d'azote</i>	1	0.8837	0.8257	0.0018 ***	0.2305	0.9999	0.0241 *	0.7549	0.0335 *	0.8238	0.3044
	2	<.0001 **	0.0550	<.0001 ***	<.0001 ***	0.0883	<.0001 ***	0.8028	<.0001 ***	0.0054 **	0.0001 ***
	3	0.0002 ***	0.0706	<.0001 ***	<.0001 ***	0.2045	0.0002 ***	0.3044	<.0001 ***	0.0015 **	0.0425 *
<i>Température foliaire</i>	1	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	0.1974	0.0002 ***	<.0001 ***
	2	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	0.2628	0.5127	0.0663
	3	0.5097	0.0006 ***	0.7176	<.0001 ***	<.0001 ***	0.0512	<.0001 ***	0.0567	0.4403	0.0782
<i>Photosynthèse net (A)</i>	1	0.9894	0.8639	0.9190	0.7227	0.9912	0.7602	0.5357	0.4628	0.2654	0.9947
	2	0.0092 **	<.0001 ***	0.0085 **	<.0001 ***	0.0919	1.0000	0.1046	0.0972	0.9999	0.1106
	3	0.2753	0.9977	0.9895	0.9829	0.2188	0.6179	0.6557	0.9491	0.9329	1.0000
<i>Transpiration instantanée (E)</i>	1	1.0000	0.2248	0.8469	0.9967	0.3772	0.9301	0.9944	0.7842	0.1490	0.6954
	2	0.2068	0.7967	0.0053 **	0.3848	0.8230	0.5507	0.9923	0.0903	0.9640	0.2832
	3	0.0728	0.9985	0.9457	0.9110	0.0655	0.0233 *	0.0176 *	0.9932	0.9841	1.0000
<i>CO₂ intercellulaire</i>	1	1.0000	0.9999	0.9990	0.2700	0.9996	0.9999	0.3504	0.9966	0.4782	0.2058
	2	0.4673	0.0001 ***	0.0071 **	<.0001 ***	0.0299 **	0.3907	0.0033 ***	0.7651	0.9712	0.3612
	3	0.3920	0.3286	0.9863	1.0000	1.0000	0.2275	0.4195	0.1839	0.3625	0.9956
<i>Conductance stomatique IRGA</i>	1	0.6348	0.8518	0.6834	0.9110	0.2171	0.9998	0.9776	0.2289	0.4345	0.9924
	2	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	0.9852	0.8936	1.0000	0.6182	0.9784	0.9006
	3	0.0032 **	0.8075	1.0000	0.9280	0.0998	0.0065 **	0.0542	0.8186	0.9988	0.9275
<i>Conductance stomatique poromètre</i>	1	0.7791	0.8916	0.6482	0.2614	0.9990	0.9991	0.8349	0.9865	0.7066	0.9269
	2	<.0001 ***	0.0412 *	<.0001 **	0.0003 ***	0.4495	0.8518	0.9503	0.0787	0.8318	0.4157
	3	0.9992	0.9990	0.9807	0.4804	0.9898	0.9987	0.6816	0.9388	0.4021	0.7992
<i>MDA</i>	1	0.9832	0.3790	0.0453 *	0.8593	0.1886	0.0202 *	0.5858	0.6064	0.8845	0.1987

	2	0.9338	1.0000	0.6687	0.9186	0.8982	0.9748	0.5350	0.6065	0.9496	0.2648
	3	0.0014 **	0.0166 *	0.0005 ***	0.0030 **	0.4795	0.8914	0.9811	0.1460	0.7757	0.6213
Chlorophylle a	1	0.2364	0.9987	0.0693	0.5338	0.1443	0.9693	0.9791	0.0377 **	0.3757	0.7549
	2	0.0525	0.9480	0.0036 **	0.2469	0.1549	0.9020	0.8583	0.0527	0.6508	0.3553
	3	0.1379	0.0091 **	<.0001 **	0.0018 **	0.7586	0.0040 **	0.3886	0.0721	0.9708	0.2401
Chlorophylle b	1	0.7933	0.9333	0.3380	0.0047 **	0.3802	0.9031	0.0252 *	0.1137	0.0016 **	0.0961
	2	0.7223	0.9427	0.4104	0.8845	0.3353	0.9762	0.2649	0.1515	0.9997	0.1160
	3	0.2298	0.0800	0.0172 *	0.2344	0.9488	0.4717	1.0000	0.8525	0.9451	0.4641
Caroténoïde	1	0.0381 *	0.5010	0.0446 *	0.9111	0.4161	1.0000	0.1385	0.4682	0.9220	0.1612
	2	0.0066 **	0.0330 *	0.0012 **	0.0001 ***	0.8215	0.7598	0.0433 *	0.2388	0.0085 **	0.2546
	3	0.2298	0.0515	0.0052 **	0.0075 **	0.7848	0.1643	0.2340	0.6567	0.7908	0.9990
Flavonoïde	1	0.9955	0.5826	0.9986	0.9980	0.8034	1.0000	1.0000	0.7515	0.7660	1.0000
	2	0.9263	0.3818	0.1294	0.9894	0.8479	0.4822	0.9971	0.9685	0.6646	0.2999
	3	0.9998	0.1345	0.7219	0.0896	0.1876	0.8176	0.1282	0.7623	0.9996	0.6440
Polyphénol	1	0.9814	0.8020	0.3949	0.9579	0.9799	0.1597	0.7323	0.0499 *	0.3964	0.8005
	2	0.0002 ***	0.0006 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	0.9904	0.0079 **	0.9773	0.0024 **	0.8364	0.0330 *
	3	0.0261 *	0.4768	0.0026 **	0.9673	0.0003 ***	0.8910	0.1083	<.0001 ***	0.1753	0.0135 *
Teneur en sucre	1	0.3817	0.0678	0.0155 *	0.0823	0.8773	0.5232	0.9114	0.9685	1.0000	0.9495
	2	0.2337	0.0013 **	0.0600	0.7305	0.2042	0.9576	0.8967	0.5575	0.0314 *	0.5198
	3	0.0001 ***	0.0001 ***	<.0001 ***	0.0025 **	1.0000	0.9090	0.6758	0.9120	0.6705	0.2112
GSH/GSSG	1	0.9913	0.5531	0.9879	0.9931	0.0302 *	1.0000	1.0000	0.0283 *	0.0314 *	1.0000
	2	0.7321	0.7328	0.2682	0.7373	1.0000	0.0204 *	1.0000	0.0204 *	1.0000	0.0208 *
	3	0.9463	0.0499 *	0.6985	0.7592	0.2203	0.9804	0.9911	0.5028	0.4403	1.0000
GSH total	1	0.4733	0.9996	0.9956	0.9995	0.5958	0.7024	0.6042	0.9998	0.9964	0.9998
	2	0.9978	0.9987	0.9127	0.9970	0.9755	0.9829	0.9648	0.7921	1.0000	0.7581

	3	0.9998	0.2050	0.7405	0.8949	0.2702	0.8263	0.9458	0.8590	0.6891	0.9976
Thiols totaux	1	0.2121	0.7269	1.0000	0.9845	0.0595	0.1988	0.4902	0.7466	0.3996	0.9805
	2	0.7338	0.7141	0.5866	0.6132	0.0621	0.5943	0.5507	0.9955	0.8984	0.7086
Phytochélatines	1	0.2172	0.7237	1.0000	0.9851	0.0972	0.2012	0.4946	0.7473	0.3998	0.9804
	2	0,5477	0.4214	0.5831	0.1334	0.1210	0.4951	0.5499	0.9956	0.8984	0.7100

Annexe 5 : P-valeurs des Comparaisons Par Paires des Moyennes Ajustées (emmeans) entre les différents sols pour la biomasse sèche et fraîche des Miscanthus

<i>Comparaison entre les sols</i>											
<i>Analyses</i>	<i>Organe</i>	<i>L7 - (L3-4)</i>	<i>L7 - (R3-5)</i>	<i>L7 - L1</i>	<i>L7 - R2</i>	<i>(L3-4) - (R3-5)</i>	<i>(L3-4) - L1</i>	<i>(L3-4) - R2</i>	<i>(R3-5) - L1</i>	<i>(R3-5) - R2</i>	<i>L1 - R2</i>
Biomasse sèche	Feuille	0.1067	0.7997	0.0096 **	0.6707	0.5752	0.7771	0.7129	0.0983	0.9993	0.1506
	Tige	0.6707	0.1545	0.0077 **	0.2082	0.8213	0.1254	0.8960	0.6013	0.9998	0.4977
Biomasse fraîche	Feuille	0.9901	1.0000	0.2862	0.8035	0.9912	0.5288	0.9660	0.2919	0.8100	0.8808
	Tige	0.9850	0.8235	0.0528	0.4172	0.9809	0.1423	0.7195	0.3473	0.9522	0.7538

Annexe 6 : P-valeurs des Comparaisons Par Paires des Moyennes Ajustées (emmeans) entre les différents sols pour les teneurs en éléments essentiels et éléments traces métalliques au sein des parties aériennes des Miscanthus.

<i>Comparaison entre les sols</i>												
<i>Éléments</i>	<i>Stade de croissance</i>	<i>Organe</i>	<i>L7 - (L3-4)</i>	<i>L7 - (R3-5)</i>	<i>L7 - L1</i>	<i>L7 - R2</i>	<i>(L3-4) - (R3-5)</i>	<i>(L3-4) - L1</i>	<i>(L3-4) - R2</i>	<i>(R3-5) - L1</i>	<i>(R3-5) - R2</i>	<i>L1 - R2</i>
Al	Stade 1	Feuille	0.5426	0.9926	0.5774	0.7896	0.2935	0.0293 *	0.9941	0.8301	0.5271	0.0806
		Tige	0.9983	0.9979	1.0000	0.9999	1.0000	0.9978	0.9999	0.9973	0.9999	0.9998
	Stade 2	Feuille	0.4712	0.5742	0.2368	0.7388	0.9998	0.9920	0.9927	0.9738	0.9989	0.9065
		Tige	0.9999	0.9949	0.9999	1.0000	0.9855	0.9986	0.9946	0.9993	1.0000	1.0000
	Stade 3	Feuille	0.8221	0.9908	0.9817	0.0818	0.9727	0.4928	0.0045 **	0.8520	0.0261 *	0.2517
		Tige	1.0000	0.8521	0.7429	0.7429	0.7345	1.0000	0.7345	0.5808	0.5808	1.0000

As	Stade 1	Feuille	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
		Tige	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
	Stade 2	Feuille	1.0000	1.0000	0.9958	1.0000	1.0000	0.9958	1.0000	0.9958	1.0000	0.9958
		Tige	1.0000	1.0000	0.3867	1.0000	1.0000	0.3867	1.0000	0.3867	1.0000	0.3867
	Stade 3	Feuille	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
		Tige	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
Ba	Stade 1	Feuille	0.4253	0.9540	0.0018 **	0.2489	0.8451	0.1777	0.9971	0.0150 *	0.6569	0.3245
		Tige	0.0540	0.7837	0.0794	1.0000	0.4789	0.9998	0.0528	0.5803	0.7787	0.0777
	Stade 2	Feuille	0.0008 ***	0.3687	0.1157	0.0038 **	0.1364	0.4128	0.9894	0.9702	0.3278	0.7074
		Tige	0.9330	0.9995	0.8459	0.9949	0.9789	0.9994	0.9946	0.9295	0.9998	0.9702
	Stade 3	Feuille	0.0040 **	0.1400	0.1151	0.0001 ***	0.6612	0.7176	0.7260	1.0000	0.0843	0.1039
		Tige	0.6242	0.9947	0.4047	0.8989	0.8801	0.9966	0.9853	0.6963	0.9932	0.9064
Ca	Stade 1	Feuille	0.6260	0.0286 *	0.1218	0.9043	0.0004 ***	0.0027 **	0.1646	0.9744	0.2119	0.5338
		Tige	0.5351	0.6755	0.0838	0.9990	0.9999	0.8322	0.6956	0.7106	0.8200	0.1462
	Stade 2	Feuille	0.0474 *	<.0001 ***	0.0145 *	0.0091 **	0.0202 *	0.9917	0.9737	0.0636	0.0926	0.9998
		Tige	0.9999	1.0000	0.9932	1.0000	0.9789	0.9987	0.9999	0.9954	1.0000	0.9945
	Stade 3	Feuille	0.7925	0.0020 **	0.6137	0.0027 **	0.0501	0.9982	0.0642	0.1016	0.7260	0.1268
		Tige	0.9998	1.0000	0.9947	0.9992	1.0000	0.9995	1.0000	0.9981	0.9999	0.9999
Cr	Stade 1	Feuille	0.9984	1.0000	1.0000	0.0283 **	0.9961	0.9988	0.0126 **	1.0000	0.0344 **	0.0267* *
		Tige	0.9981	0.8918	0.9474	0.9175	0.9733	0.9925	0.9832	0.9998	1.0000	1.0000
	Stade 2	Feuille	0.9888	0.9932	0.9822	1.0000	1.0000	0.8425	0.9905	0.8688	0.9944	0.9795
		Tige	0.9568	0.9989	0.9871	0.9980	0.9928	0.9997	0.9951	0.9993	1.0000	0.9997
	Stade 3	Feuille	0.9625	0.9999	1.0000	0.9990	0.9320	0.9788	0.9940	0.9995	0.9953	0.9998
		Tige	0.4539	0.8521	0.9727	0.7998	0.9611	0.8219	0.9792	0.9948	1.0000	0.9871
Cu	Stade 1	Feuille	0.9994	0.9989	1.0000	0.9272	1.0000	0.9996	0.8394	0.9992	0.8203	0.9221

		Tige	0.9833	0.9691	0.9998	0.1037	1.0000	0.9547	0.2943	0.9288	0.3449	0.0703
		Feuille	0.8743	0.9998	0.8899	0.9807	1.0000	0.3447	0.5596	0.9429	0.9948	0.9964
	Stade 2	Tige	0.9480	0.9890	0.9998	0.9970	0.7447	0.8915	0.8191	0.9982	0.9999	0.9998
	Stade 3	Feuille	0.9094	0.9977	0.4752	0.9725	0.9823	0.9347	0.5822	0.6758	0.8836	0.1731
		Tige	1.0000	0.4252	0.9995	0.4045	0.4722	0.9999	0.4507	0.5565	1.0000	0.5341
Fe	Stade 1	Feuille	0.9211	0.9331	0.9189	1.0000	1.0000	1.0000	0.8854	1.0000	0.9004	0.8826
		Tige	0.9998	0.9999	0.9989	0.9977	1.0000	1.0000	0.9999	0.9999	0.9997	1.0000
	Stade 2	Feuille	0.9997	0.9996	0.9931	0.9971	1.0000	0.9994	0.9999	0.9995	0.9999	1.0000
		Tige	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
	Stade 3	Feuille	0.3280	0.7242	0.4708	0.5485	0.9652	0.9991	0.9958	0.8625	0.9999	0.9508
		Tige	0.1555	0.0139 *	0.1555	0.0284	0.8690	1.0000	0.9543	0.8625	1.0000	0.9990
K	Stade 1	Feuille	0.4379	0.9848	0.7140	0.9069	0.7604	0.0334 *	0.9180	0.3910	0.9968	0.2197
		Tige	0.6345	0.9197	0.0023 **	0.0001 ***	0.1847	<.0001 ***	<.0001 ***	0.0269 *	0.8146	0.0010
	Stade 2	Feuille	0.9679	1.0000	0.9996	0.9947	0.9724	0.846	0.9992	0.9993	0.9960	0.9743
		Tige	0.1434	0.0111 *	0.0009 ***	0.0029 **	0.8447	0.3655	0.5870	0.9264	0.9962	0.9915
	Stade 3	Feuille	0.9999	1.0000	0.9776	0.9885	0.9503	0.144	0.9699	0.9817	0.9991	1.0000
		Tige	1.0000	0.9982	0.9795	0.9820	0.9989	0.639	0.9714	0.9988	1.0000	1.0000
Mg	Stade 1	Feuille	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	0.9994	0.7667	0.9998	0.8788	0.9946	0.6678
		Tige	0.0672	0.0090 **	0.0331 *	0.0005 ***	0.9436	0.283	0.4538	0.9900	0.8841	0.6319
	Stade 2	Feuille	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	0.9772	0.9026	0.9800	0.7791	0.9200	0.9977
		Tige	0.0051 **	0.0008 ***	0.0015 **	0.0004 ***	0.582	0.393	0.9362	0.9997	0.9953	0.9997
	Stade 3	Feuille	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	<.0001 ***	0.9998	0.9077	0.9889	0.9586	0.9982	0.9951
		Tige	0.1555	0.0875	0.1006	0.0987	0.9989	0.9996	0.9995	1.0000	1.0000	1.0000
Mn	Stade 1	Feuille	0.1116	0.0443 *	0.6367	0.0730	0.9949	0.8164	0.9997	0.5845	0.9996	0.7125
		Tige	0.1552	0.5175	0.0072 **	0.9943	0.9474	0.7479	0.3237	0.3074	0.7660	0.0227 *

<i>Na</i>	Stade 2	Feuille	0.6025	0.1910	0.9208	0.1448	0.9399	0.9721	0.8948	0.6431	0.9999	0.5551
		Tige	0.9871	0.9296	0.9871	0.4945	0.9982	1.0000	0.7983	0.9982	0.9982	0.9253
	Stade 3	Feuille	0.9335	0.8924	1.0000	0.9416	0.4444	0.9610	0.5384	0.8450	0.9999	0.9071
		Tige	0.9701	1.0000	0.8200	0.9850	0.9670	0.9917	1.0000	0.8111	0.9812	0.9831
	Stade 1	Feuille	0.9984	0.9968	0.8381	0.9999	0.9681	0.9450	0.9921	0.6406	0.9996	0.7606
		Tige	0.7994	0.9794	0.8139	0.3939	0.4544	0.9553	0.0408 *	0.7430	0.9897	0.9564
<i>Ni</i>	Stade 2	Feuille	0.6134	0.8467	0.6025	0.9086	0.1181	0.0433 *	0.1620	0.9929	0.9999	0.9777
		Tige	0.9996	0.0093 **	0.0984	0.2440	0.4570	0.0618	0.1670	0.8931	0.9967	0.8551
	Stade 3	Feuille	0.9999	0.526	0.9987	0.9960	0.9591	0.608	0.9997	1.0000	0.9999	0.9983
		Tige	0.9989	0.9915	1.0000	0.9281	0.7447	0.125	0.9997	0.6699	0.9977	0.8472
	Stade 1	Feuille	0.9991	1.0000	1.0000	0.2797	0.9992	0.9998	0.4116	1.0000	0.3150	0.9999
		Tige	1.0000	0.9938	0.9993	0.9853	0.9979	1.0000	0.9935	0.9998	0.9986	1.0000
<i>Pb</i>	Stade 2	Feuille	0.7988	0.1577	0.8245	0.6258	0.7564	1.0000	0.9930	0.7273	0.9999	0.8966
		Tige	0.8897	0.3504	0.0988	0.3299	0.8788	0.4981	0.8625	0.9631	0.9702	1.0000
	Stade 3	Feuille	0.6585	1.0000	0.9241	0.9929	0.5388	0.8619	0.8850	0.8733	0.9999	0.9795
		Tige	0.3267	0.5388	0.8879	0.5105	0.9963	0.8619	0.9978	0.9708	0.9625	1.0000
	Stade 1	Feuille	0.0001 ***	0.2590	0.3948	0.0001 ***	0.0367 *	0.0182 *	0.9999	0.0268 *	0.0526	0.9989
		Tige	0.0386 *	1.0000	0.8927	0.4971	0.6891	0.2753	0.0386 *	0.9553	0.8929	0.4973
<i>P</i>	Stade 2	Feuille	0.9131	0.9995	1.0000	0.9929	0.9693	0.9201	0.9930	0.9996	0.9995	0.9942
		Tige	1.0000	0.9872	0.9997	0.9871	0.9860	0.9996	0.9883	0.9981	0.9567	0.8551
	Stade 3	Feuille	1.0000	1.0000	0.9987	0.9997	1.0000	0.9988	0.9997	0.9956	1.0000	0.9983
		Tige	0.8550	1.0000	0.7270	0.9957	0.8448	0.9992	0.9706	0.7139	0.9946	0.9076
	Stade 1	Feuille	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
		Tige	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
<i>Pb</i>	Stade 2	Feuille	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000

S	Stade 3	Tige	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
		Feuille	1.0000	1.0000	0.4505	0.0079**	1.0000	0.4505	0.0079**	0.4505	0.0079**
		Tige	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
	Stade 1	Feuille	0.9993	0.1536	0.8011	0.9932	0.2416	0.6644	0.9645	0.0094**	0.0599
		Tige	0.9897	0.2650	0.6420	0.5434	0.1044	0.8917	0.8230	0.0099**	0.0062**
	Stade 2	Feuille	0.8039	0.5263	0.5010	0.6922	0.0711	0.9871	0.9997	0.0197*	0.0440*
		Tige	0.7449	0.9903	0.4501	0.7766	0.4570	0.9893	1.0000	0.2132	0.4918
	Stade 3	Feuille	0.5519	0.9979	0.4400	0.6167	0.3638	0.9998	1.0000	0.2717	0.4222
		Tige	0.9399	0.9915	0.9000	0.9792	0.7447	0.9999	0.9997	0.6699	0.8472
	Stade 1	Feuille	0.8746	0.9986	0.1491	0.9981	0.7304	0.0142**	0.7178	0.2559	1.0000
		Tige	0.1675	0.7249	0.0106**	0.9998	0.8409	0.8004	0.2288	0.2172	0.8149
	Stade 2	Feuille	0.0280**	0.1238	0.0170**	0.1351	0.9719	0.9997	0.9645	0.9299	1.0000
		Tige	0.9970	0.9994	0.9976	0.9997	0.9796	1.0000	0.9838	0.9821	1.0000
Sr	Stade 3	Feuille	0.9275	0.9292	0.7576	0.1077	1.0000	0.9954	0.4551	0.9951	0.4516
		Tige	0.9920	0.9996	0.9960	0.9993	0.9679	1.0000	0.9996	0.9795	0.9923
	Stade 1	Feuille	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
		Tige	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
	Stade 2	Feuille	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
		Tige	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
	Stade 3	Feuille	1.0000	1.0000	0.4505	0.0079**	1.0000	0.4505	0.0079**	0.4505	0.0079**
		Tige	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
	Stade 1	Feuille	0.9292	0.9993	0.9924	0.9339	0.9794	0.9960	1.0000	0.9996	0.9815
		Tige	0.8474	0.5537	0.1084	0.4185	0.9866	0.5877	0.0577	0.8711	0.0153**
	Stade 2	Feuille	0.9701	1.0000	0.9936	0.9833	0.9603	0.9995	1.0000	0.9901	0.9765
		Tige	0.9999	0.9654	0.9999	0.9379	0.9862	1.0000	0.9702	0.9846	1.0000
	Stade 3	Feuille	0.9292	0.9993	0.9924	0.9339	0.9794	0.9960	1.0000	0.9996	0.9815
		Tige	0.8474	0.5537	0.1084	0.4185	0.9866	0.5877	0.0577	0.8711	0.0153**
Zn	Stade 1	Feuille	0.9701	1.0000	0.9936	0.9833	0.9603	0.9995	1.0000	0.9901	0.9765
		Tige	0.9999	0.9654	0.9999	0.9379	0.9862	1.0000	0.9702	0.9846	1.0000
	Stade 2	Feuille	0.9292	0.9993	0.9924	0.9339	0.9794	0.9960	1.0000	0.9996	0.9815
		Tige	0.8474	0.5537	0.1084	0.4185	0.9866	0.5877	0.0577	0.8711	0.0153**
	Stade 3	Feuille	0.9701	1.0000	0.9936	0.9833	0.9603	0.9995	1.0000	0.9901	0.9765
		Tige	0.9999	0.9654	0.9999	0.9379	0.9862	1.0000	0.9702	0.9846	1.0000
	Stade 1	Feuille	0.9292	0.9993	0.9924	0.9339	0.9794	0.9960	1.0000	0.9996	0.9815
		Tige	0.8474	0.5537	0.1084	0.4185	0.9866	0.5877	0.0577	0.8711	0.0153**
	Stade 2	Feuille	0.9701	1.0000	0.9936	0.9833	0.9603	0.9995	1.0000	0.9901	0.9765
		Tige	0.9999	0.9654	0.9999	0.9379	0.9862	1.0000	0.9702	0.9846	1.0000
	Stade 3	Feuille	0.9292	0.9993	0.9924	0.9339	0.9794	0.9960	1.0000	0.9996	0.9815
		Tige	0.8474	0.5537	0.1084	0.4185	0.9866	0.5877	0.0577	0.8711	0.0153**

Stade 3	Feuille	0.9231	0.9996	0.9560	0.7904	0.9712	0.9999	0.9980	0.9872	0.8844	0.9927
	Tige	0.9999	0.9852	0.9911	0.9774	0.9616	0.9735	0.9474	1.0000	1.0000	0.9999

Annexe 7 : P-valeurs des Comparaisons Par Paires des Moyennes Ajustées (emmeans) entre les différents sols pour les teneurs en éléments essentiels et éléments traces métalliques au sein des rhizomes des *Miscanthus*

<i>Éléments</i>	<i>L7 - (L3-4)</i>	<i>L7 - (R3-5)</i>	<i>L7 - L1</i>	<i>L7 - R2</i>	<i>(L3-4) - (R3-5)</i>	<i>(L3-4) - L1</i>	<i>(L3-4) - R2</i>	<i>(R3-5) - L1</i>	<i>(R3-5) - R2</i>	<i>L1 - R2</i>
Al	0.5790	0.7965	0.5356	1.0000	0.9939	1.0000	0.5773	0.9880	0.7950	0.5340
Ba	0.9903	0.8411	0.9625	0.3965	0.9765	0.9996	0.6366	0.9954	0.9129	0.7489
Ca	0.9984	0.6711	0.7983	0.0427 *	0.8194	0.9157	0.1117	0.9992	0.4739	0.3579
Cr	0.8603	0.8969	0.9998	0.9956	1.0000	0.9222	0.9699	0.9480	0.9833	0.9996
Cu	0.6719	0.6176	0.9983	0.7442	1.0000	0.5130	0.9999	0.4619	0.9993	0.5859
Fe	0.9994	0.9626	0.9991	0.6559	0.9025	1.0000	0.5343	0.8937	0.9463	0.5210
K	0.9961	0.9905	0.9921	0.9125	0.9246	1.0000	0.9872	0.9013	0.7059	0.9929
Mg	0.2820	0.4400	0.1036	0.2433	0.9960	0.9533	1.0000	0.8269	0.9889	0.9743
Mn	0.9837	0.9813	0.9984	0.3803	1.0000	0.9992	0.6556	0.9989	0.6665	0.5221
Na	0.9474	1.0000	0.9968	0.9903	0.9525	0.9947	0.9986	0.9975	0.9919	1.0000
Ni	0.9163	0.9989	0.9989	1.0000	0.9767	0.9759	0.9217	1.0000	0.9991	0.9992
P	0.2004	0.5516	0.8523	0.9677	0.9210	0.6540	0.4506	0.9774	0.8770	0.9953
Pb	0.9970	0.1144	0.9741	0.3564	0.0493 *	0.8848	0.2305	0.2666	0.9220	0.6656
S	0.9768	0.1411	1.0000	1.0000	0.3136	0.9727	0.9552	0.1357	0.1185	1.0000
Si	0.7241	0.9529	0.8165	0.6466	0.9787	0.2144	0.9999	0.4400	0.9531	0.1758
Sr	0.9822	0.9206	0.6700	0.1963	0.9983	0.9184	0.3962	0.9813	0.5442	0.8331
V	0.9999	0.9991	0.9999	0.0433 *	0.9957	1.0000	0.0465 *	0.9957	0.7661	0.0465 *
Zn	0.0973	0.0336 *	0.0992	0.0444 *	0.085	0.9998	0.9248	0.7705	0.9996	0.8610

Zr	0.5538	0.5215	0.6608	0.6076	1.0000	0.9997	1.0000	0.9990	0.9998	1.0000
-----------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------

Annexe 8 : P-valeurs des Comparaisons Par Paires des Moyennes Ajustées (emmeans) entre les différents sols pour les teneurs en éléments traces métalliques au sein des parties aériennes sénescentes (de 2022) des *Miscanthus*

<i>Comparaison néosol – sol contaminé</i>		
<i>Élément</i>	<i>Feuille</i>	<i>Tige</i>
Al	< 0.0001 ***	0.6994
Ba	< 0.0001 ***	0.0001 ***
Cr	0.9263	0.4451
Cu	0.1195	0.3638
Ni	0.3842	0.3515
Pb	< 0.0001 ***	1.0000
Ti	< 0.0001 ***	0.9139
Zn	0.0039 **	0.2218
Ca	< 0.0001 ***	0.0018 **
Fe	0.0001 ***	0.1911
K	0.0732	0.0121 *
Mg	< 0.0001 ***	0.0005 ***
Mn	0.9897	0.1354
Ca	< 0.0001 ***	0.0018 **
Fe	0.0001 ***	0.1911