# Piste pour recycler le phosphite de calcium en engrais phosphaté

Mario Fontana, Saïd Elfouki, Luca Bragazza, Thomas Guillaume, Christoph Carlen, Sokrat Sinaj Agroscope, 1260 Nyon, Suisse

Renseignements: Mario Fontana, e-mail: mario.fontana@agroscope.admin.ch

https://doi.org/10.34776/afs14-141 Date de publication: 7 juillet 2023



Les engrais verts pour oxyder le phosphite en phosphate. (Photo : Mario Fontana, Agroscope)

## Résumé

Le phosphore (P) est un nutriment crucial pour assurer une productivité optimale des cultures. Toutefois, les réserves de minéraux nécessaires à la production d'engrais phosphaté diminuent et il est désormais urgent de développer des solutions alternatives. Le recyclage de résidus contenant du P en fait partie et cette étude teste la possibilité de revaloriser le phosphite de calcium (Phi-Ca), un sous-produit industriel dont la quantité de P représente 5–10 % de l'importation pour les fertilisants suisses. Un essai en serre a été réalisé pour mettre à profit une culture d'engrais vert (EV) afin d'oxyder le phosphite pour fournir du phosphate à une culture subséquente de maïs. Les objectifs de cette étude étaient de tester les effets du Phi-Ca sur (i) la production et la concentration en phosphite (Phi) dans la biomasse de l'EV et du maïs, (ii) des indica-

teurs de fertilité biologique du sol et (iii) la teneur en P du sol disponible pour les cultures. Dans un sol argileux et un sol sableux, 38 kg P ha<sup>-1</sup> ont été ajoutés avant le semi d'EV avec du Phi-Ca ou du super triple phosphate (STP) qui est un engrais de référence. Un contrôle sans apport de P a également été mis en place. La biomasse aérienne d'EV a été récoltée pour chaque pot après 8 semaines puis mélangée à la terre que contenait le pot. Après avoir rempoté le mélange terre/biomasse, du maïs a été semé et la biomasse aérienne a été récoltée après 8 semaines. Les biomasses aériennes d'EV et de maïs ont été pesées et la concentration en Phi a été mesurée. À la fin des cultures d'EV et de maïs, du sol a été collecté afin d'analyser le carbone microbien (C<sub>mic</sub>), le carbone organique (C<sub>Org</sub>) ainsi que le P disponible (P-NaHCO<sub>3</sub>) pour les cultures. Les productions de biomasse aérienne d'EV et de maïs n'ont généralement pas été affectées ni négativement par la phytotoxicité du Phi ni positivement par le Phi-Ca ou le STP, car le P des sols n'était pas limitant. Des concentrations de Phi dans l'EV, variables selon les espèces et le type de sol, ont été détectées tandis qu'aucune trace de Phi n'a été observée dans la biomasse aérienne du maïs. Les effets du Phi-Ca et du STP sur le C<sub>mic</sub> et la minéralisation du Corg ont été comparables et spécifiques au deux types de sol contrastés. À la fin des cultures d'EV et de maïs, le Phi-Ca a augmenté le P-NaHCO<sub>3</sub> autant que le STP dans le sol sableux et davantage dans le sol argileux. Ce résultat est probablement dû à un relargage du P plus lent avec le Phi-Ca. Cette étude montre que, dans des conditions de sol contrastées, le Phi-Ca n'a pas eu d'impact négatif sur la fertilité biologique, qu'il n'a pas affecté l'influence de l'EV sur la culture de maïs et que le Phi a été oxydé durant la culture d'EV par des flores microbiennes contrastées.

Key words: phosphorus, green manure, maize, oxydation, recycling, calcium phosphite.

## Introduction

Le phosphore (P) est un nutriment essentiel pour les cultures (Marschner 2012) dont l'apport est crucial pour assurer une productivité optimale. Toutefois, les réserves de phosphate naturel nécessaires à la production d'engrais phosphatés pourraient être épuisées d'ici quelques décennies (Childers et al., 2011; Cordell et al., 2009; Gilbert 2009). Ce scénario souligne la nécessité de mettre en œuvre des pratiques innovantes de recyclage de déchets contenant du P (Koppelaar et Weikard, 2013). En Suisse, la quantité annuelle de P importée pour les fertilisants (4200t) représente la moitié de la quantité de P rejetée dans les déchets (9600 t); ainsi, la Suisse pourrait - théoriquement - être autonome en recyclant ses rejets de P (Mayer et al., 2019). Par exemple, une entreprise suisse spécialiste des dérivés phosphorés a mis en décharge annuellement environ 300t P sous forme de phosphite de calcium (Phi-Ca) qui pourraient être recyclés en engrais phosphatés afin d'optimiser le cycle du P. Revaloriser le phosphite (Phi) en engrais est un défi, car il ne peut pas être utilisé comme source de P par les plantes (Gómez-Merino et Trejo-Téllez, 2015; Ratjen et Gerendás, 2009). Comme le phosphate, le phosphite est prélevé par les plantes dans la solution du sol et stocké dans les vacuoles, mais ne peut pas être métabolisé comme le phosphate (Lambers et Plaxton, 2018; Ratjen et Gerendás, 2009; Smillie et al., 1989). De plus, le phosphite peut être phytotoxique selon la dose absorbée par la plante (Avila et al., 2011; Estrada-Ortiz et al., 2013; Thi Bich Thao et al., 2009; Ticconi et al., 2001). Il peut également bloquer les mécanismes biochimiques qui se déclenchent lors d'une carence en P (Lambers et Plaxton, 2018). Toutefois, dans le cadre d'un essai en serre effectué il y a plusieurs décennies sur deux cultures successives, différents sels de phosphite avait été phytotoxiques sur la première culture alors qu'un effet bénéfique avait été observé sur la seconde et attribué à l'oxydation du phosphite en phosphate par les micro-organismes du sol (Adams et Conrad, 1953; MacIntire et al., 1950). La capacité d'oxyder le phosphite en phosphate est un caractère ancestral que possède de nombreux micro-organismes (Schink et Friedrich, 2000). Différentes enzymes microbiennes sont associées à l'oxydation du phosphite (Costas et al., 2001; Gómez-Merino et Trejo-Téllez, 2015; Poehlein et al., 2013; Yang et Metcalf, 2004). La capacité des micro-organismes du sol à oxyder le phosphite en phosphate n'a jamais été mise à profit, probablement à cause de l'effet potentiellement délétère du phosphite sur les cultures avant son oxyda-

tion. Cependant, l'oxydation du phosphite en phosphate apparait comme le seul moyen de valoriser le phosphite comme fertilisant. Deux études sur la persistance du phosphite ont montré que sous forme de sel soluble à l'eau, il pouvait être oxydé après quelques semaines en sol sableux (Ouimette et Coffey, 1989; Stoven et al., 2007). Toutefois, la vitesse d'oxydation du phosphite sous une forme insoluble à l'eau comme le Phi-Ca est inconnue. Ni l'influence des propriétés du sol ni celle du type de culture sur la vitesse d'oxydation du phosphite n'a été étudiée. De plus, comme les formes de phosphite solubles à l'eau sont utilisées comme fongicides (Hardy et al., 2001; Lobato et al., 2010), il est possible que même une forme insoluble à l'eau comme le Phi-Ca modifie la flore microbienne. L'effet d'un tel apport sur la fertilité biologique des sols devrait également être testé.

Malgré une efficacité non avérée du phosphite sur la nutrition phosphatée, des formulations de biostimulants en contiennent et sont distribuées dans certains pays. En Suisse, de telles formulations ne sont plus commercialisées et une nouvelle ordonnance interdira l'ajout de phosphite dans les engrais à partir du 1<sup>er</sup> janvier 2024 (OFAG, communication personnelle). En revanche, différentes formulations de fongicides contenant du phosphite (ou phosphonate) sont utilisées en Suisse, par exemple pour lutter contre le mildiou de la patate (Krebs et al., 2013). Toutefois, la persistance du phosphite dans le système sol-plante, son arrière-effet sur les propriétés des sols et sur la productivité végétale sont mal connus. En 2018, Agroscope a mis en place un essai en serre afin d'apporter des éléments de réponse à ces questions et de générer des connaissances utiles au développement de méthodes de recyclage du phosphite en engrais phosphaté. L'hypothèse qui a été testée est que des flores microbiennes autochtones de deux types de sol contrastés cultivés avec différentes espèces d'engrais vert (EV) peuvent oxyder le phosphite afin de fournir du phosphate pour une culture de maïs subséquente. Les résultats de cet essai sont détaillés dans deux publications (Fontana et al., 2021a, 2021b) et sont synthétisés dans cet article. Plus spécifiquement, l'essai en serre a permis de tester, pour différentes cultures d'EV suivies d'une culture de maïs, si le Phi-Ca affecte (i) la production et la teneur en phosphite (indicateur de la presence de phosphite biodisponible) de la biomasse aérienne, (ii) la fertilite, biologique et (iii) le phosphore disponible du sol (via l'oxydation du phosphite).

## Matériel et méthodes

#### Dispositif expérimental et collecte des échantillons

Une culture d'EV puis une culture de maïs ont été effectuées dans les serres d'Agroscope à Changins. Trois régimes de fertilisation ont été appliqués: phosphite de calcium (Phi-Ca), super triple phosphate (STP) et contrôle (sans apport de nutriments). Avant le semi d'EV, la culture a été fertilisée à un équivalent de 38kg P ha<sup>-1</sup> sous forme de Phi-Ca ou de STP afin de compenser les exportations théoriques en P de la culture de maïs (Sinaj et al., 2017). Le STP a été broyé en poudre à l'aide d'un moulin Retsch BB50 pour optimiser la distribution du P dans les deux sols, sableux et argileux, collectés respectivement à Changins et Cadenazzo. Ces deux types de sols contrastés sont représentatifs des sols agricoles suisses qui ne sont généralement pas déficients en P (pH: 5,8 and 7,8, teneur en argile: 62 et 291 g kg<sup>-1</sup>, teneur en sable: 519 et 282 g kg<sup>-1</sup>, carbone organique (C<sub>Org</sub>) 16 et 19g kg<sup>-1</sup>, N total 1,5 et 2,2g kg<sup>-1</sup>, P disponible (P-NaHCO<sub>3</sub>) 50,1 and 29,3 mg kg<sup>-1</sup>, capacité d'échange cationique: 67,9 et 143,3 meq kg<sup>-1</sup> pour les sols respectivement sableux et argileux (Fontana et al., 2021a). Ce choix a pour but de limiter un effet potentiellement phytotoxique du phosphite sur les cultures qui est plus marqué dans les sols déficients en P (Avila et al., 2011; Barrett et al., 2004). Pour calculer la quantité de P à apporter lors de la préparation des sols, la teneur en eau a été mesurée à l'aide d'un «moisture analyzer», la densité apparente du sol reportée dans (Gallet et al., 2003) a été utilisée et une incorporation à 20 cm a été considérée. Une quantité de 21,3 et 21,5 mg P kg<sup>-1</sup> sol sec sous forme de poudre (Phi-Ca ou STP) a été mélangée aux sols argileux et sableux. Les pots (volume de 9,31, diamètre de 27 cm et hauteur de 24,3 cm) ont été rempli avec un volume similaire correspondant à 9,5 kg de sol argileux et 9,3 kg de sol sableux.

Les 4 espèces d'EV semées, avoine (*Avena strigosa*), moutarde (*Brassica juncea*), lupin (*Lupinus albus*) et pois (*Pisum sativum*), ont été sélectionnées pour leurs traits racinaires et pour leur stratégie d'absorption du P contrastés. Selon des expériences en champs préalables (Wendling *et al.*, 2017, 2016), la densité des plantes était respectivement de 5, 20, 25 et 7 pour le lupin, l'avoine, la moutarde et le pois. Après 8 semaines de culture d'EV, la biomasse fraiche a été récoltée, pesée puis découpée en petits morceaux à l'aide d'un sécateur dans un récipient. Ensuite, 20 g de biomasse découpée a été sous-échantillonnée et séché au four (55 °C durant 72 h) pour analyser la teneur en eau et en phosphite (voir sous-section suivante). Le reste de la biomasse aérienne a été mélangé avec le contenu de chaque pot (le sol ainsi que la biomasse racinaire) avant d'être rempoté. Ensuite, 3 graines de maïs ont été semées 5 jours après le rempotage. Le maïs a été sélectionné comme deuxième culture, car il absorbe préférentiellement le phosphite comparé au phosphate, il est très sensible à la toxicité du phosphite et a une forte demande en P (Avila et al., 2011; Schroetter et al., 2006). Cinq jours après la germination du maïs, les deux plants les moins vigoureux ont été enlevés et laissés à la surface du sol. Deux semaines après le semis de maïs, 30 kg N ha<sup>-1</sup> (50 % NH<sub>4</sub> / 50 % NO<sub>3</sub>) ont été ajoutés afin d'éviter un stress azoté. De plus, avant de semer le maïs, 10g (±0,1) de biomasse fraiche d'EV ont été insérés dans un sac de litière (maille = 0,45 mm) puis enterrés à 2 cm de profondeur. À la fin de la culture de maïs, les sacs de litière ont été récupérés, séchés au four (45°C, 48h) puis pesés. La biomasse de maïs a été pesée puis séchée au four (55 °C durant 72 h).

Pour assurer des conditions photosynthétiques optimales de croissance pour les plantes, la température journalière a été maintenue entre 18°C et 25°C. La lumière journalière a été complétée à l'aide d'une lampe à sodium à haute pression (400 W m<sup>2</sup>) de 6 h à 20 h lorsque l'intensité lumineuse était inférieure à 250W m<sup>-2</sup>. Les pots ont été arrosés manuellement afin de garder un taux d'humidité constant (≈ 70 % -80 % de la capacité au champ). Les pots ont été déplacés toutes les 3 semaines afin d'éviter un biais potentiel dû à l'hétérogénéité de la serre. Au total, 4 réplicas pour chacune des 4 espèces d'EV ont été cultivés selon 3 traitements de fertilisation effectués sur les 2 types de sol totalisant 96 pots. De plus, dans le but d'isoler l'effet «direct» de la culture d'EV sur les propriétés du sol, 3 réplicas de sol nus (sans culture d'EV) ont été incubés dans la serre dans des conditions similaires aux autres cultures d'EV pour les 3 traitements de fertilisation et pour les deux types de sol totalisant 18 pots. Ensuite, du maïs a été semé de la même manière que pour les pots qui ont été cultivés avec de l'EV. Ces pots sont appelés «sols incubés» (SI) dans la suite du texte, tandis que les sols dans lesquels une culture d'EV a été effectué sont appelés «sols cultivés» (SC).

#### Analyses du phosphite dans la biomasse

Les biomasses sèches d'EV et de maïs ont été moulues à l'aide d'un broyeur concasseur «Retsch». Pour analyser le phosphite, la méthode européenne de référence QuPPE a été appliquée (Anastassiades *et al.*, 2015). Brièvement, 0,5g de biomasse sèche a été ajoutée à 5 ml de méthanol grade pour HPLC et acidifié avec de l'acide formique (CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 1% vol/vol), passé au vortex 2 fois pendant 30 secondes avec un intervalle de 5 minutes et centrifugé (4500 rpm) pendant 5 minutes. Finalement, le surnageant a été injecté dans une colonne Thermo Hypercarb (100 × 2,1 mm, granulométrie = 3 µm) dans le but de mesurer la concentration en phosphite à l'aide d'un dispositif LCMS-MS (Waters Acquity H-Class/TQ-S Micro). Dans le cas où des concentrations de phosphites entre la limite de détection (2 mg kg<sup>-1</sup>) et la limite de quantification (5 mg kg<sup>-1</sup>) ont été mesurées, une concentration de 5 mg kg<sup>-1</sup> a été assignée.

#### Analyses du sol

À la fin des cultures d'EV et de maïs, 4 carottes de sol ont été collectées sur toute la profondeur du pot, totalisant environ 300g de sol. Environ 100g de sol frais ont été immédiatement stockés en chambre froide (4°C) pour l'analyse de la biomasse microbienne. Le reste du sol a été séché à l'air avant les analyses chimiques. Le carbone organique (Corg) a été determiné par oxidation suflochromique (NF ISO 14235). Le P disponible a été déterminé après une extraction au bicarbonate de sodium (NaHCO<sub>3</sub>) (Olsen, 1954) puis mesuré selon le protocole de Murphy et Riley (1962). Le carbone microbien (C<sub>mic</sub>) a été estimé par extraction après fumigation au chloroforme (Vance et al., 1987). Le carbone total a été mesuré (Shimadzu analyzer TOC-V CPH + TNM-1) après extraction des échantillons fumigués et non fumigués au K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:10) à 0,5 M. Les valeurs de C<sub>mic</sub> ont ensuite été estimées avec un coefficient K<sub>c</sub> de 0,45 (Jenkinson et al., 2004).

#### **Analyses statistiques**

Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le programme R 3.01 (Team 2013). La normalité a été testée avec la function shapiro.test disponible dans le package stats. La condition d'indépendance n'était pas remplie pour la totalité du jeu de donnée. De ce fait, le R carré ajusté et la signification des effets «type de sol», «traitement» (de fertilisation) et «espèce» (d'EV) ont été calculés pour la totalité du jeu de donnée. Les données ont été modélisées séparément pour chaque type de sol car l'effet «type de sol» était systématiquement fort et significatif. Lorsque l'effet «espèce» n'était pas significatif, l'effet traitement a été testé à l'aide du test de Tukey avec la fonction tukeyHSD disponible dans le package stats ou en utilisant un test permutationnel à l'aide de la fonction pairwisePermutationTest disponible dans le package rcompanion dans le cas où la condition de normalité n'était pas satisfaite. Lorsque l'effet «espèce» était significatif, l'effet « traitement » a été testé séparément pour chaque espèce à l'aide d'un test de Tukey.

Résultats et discussions

## Production et concentration en phosphite de la biomasse

Bien que l'azote total (Ntot) et la capacité d'échanges cationiques aient été plus élevés dans le sol argileux, les productions de biomasse d'EV et de maïs étaient plus faibles que dans le sol sableux caractérisé par des propriétés physiques moins limitantes. Le rapport carbone



Figure 1 | Concentration en phosphite dans la biomasse des différentes espèces d'engrais vert après 8 semaines de culture (tiré de Fontana *et al.* 2021a). Les différences significatives (p < 0,05) entre les espèces d'engrais verts cultivées dans un même type de sol sont indiqués par différentes lettres minuscules alors que les différences significatives (p < 0,05) entre les 2 types de sol pour la même espèce d'engrais vert sont indiquées par différentes lettres majuscules.

organique (C<sub>Org</sub>): argile du sol argileux était de 1:17, soit au-delà de 1:13 qui est considéré comme une limite reflétant un mauvais état de la structure du sol (Johannes et al., 2017). En revanche, le rapport C<sub>Org</sub>: argile du sol sableux était de 1:5, une valeur en dessous de 1:8, ce qui est synonyme de structure optimale. La production de biomasse du maïs cultivé sur le sol argileux était plus importante après les cultures de pois et d'avoine (tabl. 1) probablement grâce à leur forte biomasse racinaire qui a pu améliorer les propriétés physiques du sol comparativement à la moutarde et au lupin (Faucon et al., 2017; Miller et al., 2003; Puget et Drinkwater, 2001; Wendling et al., 2017). La relation linéaire entre l'exportation en N et la production de biomasse du maïs cultivée sur le sol sableux (adj R<sup>2</sup>=0,53, p <0,01) suggère que le N a été limitant et justifie que la production de biomasse de maïs ait été plus élevée après les cultures de légumineuses (pois et lupin) comparativement à l'avoine ou à la moutarde (Büchi et al., 2015; Jemo et al., 2006). Pour les deux types de sol, l'influence de l'espèce d'EV sur la production de biomasse du maïs n'a pas été différente pour la fertilisation avec le Phi-Ca ou avec le STP.

Les teneurs en phosphite mesurées dans la biomasse de l'EV étaient très variables en fonction de l'espèce et du type de sol (fig. 1), car les plus fortes teneurs en phosphite ont été observées dans la moutarde et le pois cultivés respectivement sur les sols argileux et sableux. Bien qu'il ait été montré qu'une augmentation de la concentration en phosphite dans la biomasse augmente la phytotoxicité (Barrett *et al.*, 2004), aucune relation n'a été trouvée dans cette étude entre la teneur en phosphite et la production de biomasse, ni entre les espèces d'EV ni même entre les réplicas de la même espèce. Parce que les sols sableux et argileux étaient respectivement riches et très riches en P (Defra, 2010), le P n'a pas été un facteur limitant, ce qui a probablement minimisé la phytotoxicité du Phi (Avila *et al.*, 2011; Barrett *et al.*, 2004;

Schroetter et al., 2006). Toutefois, le Phi-Ca a diminué la production de biomasse du lupin cultivé sur le sol argileux (tabl. 1), éventuellement parce que le phosphite stimule la production de racines protéoïdes (Gilbert et al., 2000) qui sont propres au lupin (Keerthisinghe et al., 1998) et coûteuse en énergie (Massonneau et al., 2001). En outre, aucune trace de phosphite n'a été détectée dans la biomasse du maïs. Cela montre que ni le phosphite présent dans la solution du sol durant la culture d'EV ni le phosphite de la biomasse d'EV n'ont été absorbés par le maïs. Ce résultat suggère que les 8 semaines de culture d'EV ont permis d'oxyder le phosphite issu du Phi-Ca, ce qui est un laps de temps comparable au temps d'oxydation du phosphite issu de formes solubles à l'eau dans des sols sableux reconstitués (Ouimette et Coffey, 1989; Stoven et al., 2007).

## Influence du phosphite de calcium sur la fertilité biologique

Pour les sols incubés, la fertilisation n'a pas eu d'effet (p < 0.05) sur la teneur en C<sub>Org</sub> ni durant l'incubation des sols ni durant la culture de maïs qui a suivi (tabl. 2). De plus, le Phi-Ca n'a pas affecté (p < 0,05) le C<sub>mic</sub> à la fin de chaque culture. Ainsi, les indicateurs de fertilité biologique mesurés n'ont pas été affectés ni durant l'incubation de Phi-Ca ni lors de la culture de maïs subséquente. En revanche, à la fin de la culture d'EV, le Phi-Ca et le STP ont réduit significativement la teneur en Corg dans les deux types de sol (tabl. 2). Ceci pourrait être dû à une augmentation de la respiration hétérotrophe et/ou à une demande en N microbien accrue et/ou à un «priming effect» positif dû à une exsudation racinaire plus importante à la suite d'un apport de P via le Phi-Ca ou le STP (Clarholm, 1985; Dendooven et al., 2015; Poeplau et al., 2016). Cette diminution de Corg est cohérente avec celle observée pour le C<sub>mic</sub> à la fin des cultures d'EV pour le sol argileux ainsi que dans une moindre mesure pour

 Tableau 1 | Production de biomasse d'engrais vert (EV) et de maïs pour les traitements phosphite de calcium (Phi-Ca), super triple phosphate (STP) et Contrôle

Espèce d'EV	Production de biomasse sur sol argileux (t ha <sup>-1</sup> )						Production de biomasse sur sol sableux (t ha-1)					
	Phi-Ca		STP		Contrôle		Phi-Ca		STP		Contrôle	
	EV	Maïs	EV	Maïs	EV	Maïs	EV	Maïs	EV	Maïs	EV	Maïs
Avoine	4,4 B	4,1 A	5,1 A	4,2 A	4,8 AB	4,8 A	7,2 A	7,2 A	7,3 A	6,1 A	6,6 A	5,8 A
Lupin	5,9 B	3,1 A	6,7 AB	3,1 A	7,4 B	3,2 A	10,9 A	10,9 A	11,1 A	13,6 A	11,3 A	9,9 A
Moutarde	4,5 A	2,7 A	5,1 A	2,6 A	4,6 A	2,1 A	7,0 A	7,0 A	7,3 A	7,8 A	7,0 A	7,4 A
Pois	4,8 A	3,7 B	6,6 A	5,0 B	6,4 A	7,7 A	9,4 A	9,4 A	11,3 A	13,6 A	10,2 A	14,1 A
SI	NA	2,7	NA	2,3	NA	3,3	NA	NA	NA	15,7	NA	14,0

Pour chaque colonne, différentes lettres indiquent des differences significatives (p < 0,05) de production de biomasse entre les traitements de fertilisation pour la même espèce et le même type de sol.

le sol sableux (tabl. 3). Dans le sol argileux, la diminution de C<sub>mic</sub> était plus prononcée avec le Phi-Ca qu'avec le STP, en fonction de l'espèce d'EV cultivée. Ainsi, le Cmic n'a pas été affecté par la fertilisation au Phi-Ca à la fin de la culture de lupin, tandis que la plus forte diminution de C<sub>mic</sub> a été observée à la fin de la culture d'avoine. De plus, durant la culture de maïs, la décomposition des résidus d'EV fertilisés au Phi-Ca a ralenti la minéralisation du Cora comparativement au STP ou au contrôle dans le sol argileux. Cet effet pourrait être causé par la présence de phosphite dans les résidus d'EV (Fontana et al., 2021b). Cette hypothèse est cohérente avec le fait que la diminution de  $C_{\mbox{\scriptsize mic}}$  la plus importante a été observée avec la moutarde en décomposition dont la biomasse était la plus concentrée en phosphite (fig. 1). La littérature manque d'élément pour appuyer cette hypothèse, car cette étude fait figure de pionnière, bien que la décomposition de résidus de culture concentrés en phosphite soit une situation probablement courante compte tenu de l'usage du phosphite comme fongicide. Dans le sol sableux, la décomposition des résidus concentrés en phosphite n'a pas impacté le C<sub>mic</sub> ou la minéralisation du Cora à la fin de la culture de maïs. Cependant, la forte concentration en phosphite observée dans la biomasse du pois (fig. 1) a diminué son taux de décomposition (tabl. 4), suggérant que l'activité des organismes décomposeurs a été affectée. Ceci est cohérent avec l'étude de Stoven et al. (2007) qui ont montré que la décomposition d'un substrat par la mésofaune d'un sol sableux reconstitué diminuait à la suite d'un apport de phosphite. Toutefois, ces auteurs ont relevé que l'apport de phosphite n'a pas porté préjudice à la biocénose. Dans notre étude également, bien que le Phi-Ca ait influencé les indicateurs de fertilité biologique comparativement au contrôle dans des conditions bien spécifiques, aucune différence significative entre le *STP* et le *Phi-Ca* n'a été observée (Fontana *et al.*, 2021a, 2021b). Ceci laisse penser que le *Phi-Ca* n'a pas eu d'impact négatif majeur sur la fertilité biologique. Cette étude montre que l'effet du *Phi-Ca* sur la fertilité biologique dépend d'abord du type de sol et, dans une moindre mesure, de l'espèce cultivée (ce qui souligne la difficulté d'anticiper les interactions entre fertilisation phosphatée, type de sol et culture d'EV). De futures études sont nécessaires pour clarifier plus finement, en fonction des propriétés des sols, l'effet du phosphite dans les sols et des résidus de culture contenant du phosphite sur l'activité et les communautés microbiennes du sol.

### Influence du phosphite de calcium sur le P disponible du sol

Après 8 semaines d'incubation, le Phi-Ca a augmenté significativement les teneurs en P-NaHCO<sub>3</sub>, montrant qu'au moins une partie du phosphite, sinon la totalité, a été oxydée en phosphate (fig. 2). L'augmentation en P-NaHCO<sub>3</sub> avec le Phi-Ca comme avec le STP a été plus importante dans le sol sableux que dans le sol argileux. Cela peut s'expliquer par les teneurs en P plus élevées dans le sol sableux (ce qui suggèrent un plus grand taux de saturation des sites de fixation du P) et une capacité de fixation du P moindre comparativement au sol argileux (Arai et Sparks, 2007; Beauchemin et Simard, 1999; Sinaj et al., 2001, 1997). Dans le sol argileux incubé, la fertilisation avec le STP n'a pas augmenté le P-NaHCO<sub>3</sub> (fig. 2). Le P contenu dans le STP réduit en poudre a probablement été rapidement solubilisé pour être ensuite intégré dans la phase solide du sol non disponible pour les cultures. Également à la suite d'un apport de



Figure 2 | Phosphore disponible (P-NaHCO<sub>3</sub>) au début de l'expérimentation et avant la fertilisation (TO), à la fin des cultures d'engrais vert (EV) et de maïs fertilisées avec 38 kg P ha<sup>-1</sup> sous forme de phosphite de calcium (Phi-Ca), super triple phosphate (STP) et non fertilisées (Contrôle) pour les sols incubés (SI) et cultivés avec de l'EV (CEV) entre T0 et EV. Les différences significatives (p < 0,05) entre les traitements sont indiqués par différentes lettres minuscules pour les SI et majuscules pour les CEV.

	Variable		Sol argileux		Sol sableux			
	vanable	Ca-Phi	STP	Contrôle	Ca-Phi	STP	Contrôle	
SI	C <sub>org</sub> EV (mg kg <sup>-1</sup> )	18,5 A	17,4 A	18,7 A	15,6 A	15,6 A	15,6 A	
	Minéralisation C <sub>org</sub> Maïs (%)	-8,1 A	-7,6 A	-9,2 A	-4,4 A	–1,7 A	-5,6 A	
CEV	C <sub>org</sub> EV (mg kg-1)	16,0 B	16,8 B	18,3 A	15,1 B	14,9 C	15,5 A	
	Minéralisation C <sub>org</sub> Maïs (%)	+3,4 A	-2,5 B	-6,6 B	-0,2 A	-5,6 A	+1,7 A	

 Tableau 2
 Teneur en carbone organique à la fin de la culture d'engrais vert (C<sub>org</sub> EV) et minéralisation du C<sub>org</sub> durant la culture de maïs pour les traitements phosphite de calcium (*Phi-Ca*), super triple phosphate (*STP*) et Contrôle.

Différentes lettres indiquent des différences significatives (p < 0,05) entre les traitements de fertilisation pour le même type de sol.

*STP* dans un sol argileux incubé (41 % d'argile), Morais et Gatiboni (2015) ont observé une augmentation du P-NaHCO<sub>3</sub> durant les 30 premiers jours puis une diminution jusqu'à revenir au niveau initial après 60 jours. Au contraire, l'augmentation du P-NaHCO<sub>3</sub> avec le *Phi-Ca* a été plus durable, éventuellement à cause de sa très faible solubilité à l'eau, ce qui a pu ralentir le relargage du P (Fontana *et al.*, 2021a), une caractéristique qui augmente l'efficacité agronomique (Roger *et al.*, 2016). Bien que les teneurs en P-NaHCO<sub>3</sub> des deux types de sols incubés aient diminué durant la culture de maïs, elles sont restées plus élevées avec le *Phi-Ca* qu'avec le *contrôle*. Ceci montre que le *Phi-Ca* augmente le P disponible pour les cultures plus durablement que le *STP*.

Le *Phi-Ca* et le *STP* ont augmenté le P-NaHCO<sub>3</sub> dans le sol sableux à la fin des cultures d'EV et de maïs, mais dans

Tableau 3 | Différences de carbone microbien ( $C_{mic}$ ) entre le con-<br/>trôle et le phosphite de calcium (*Phi-Ca*) ou le super triple phosphate<br/>(*STP*) à la fin des cultures de d'engrais vert (EV, 1<sup>re</sup> culture) et de<br/>maïs (2<sup>e</sup> culture) pour les sols incubés (SI) et cultivés (SC), les diffé-<br/>rences significatives (p < 0,05) sont en gras. L'effet de la fertilisation<br/>a été testé séparémment pour les espèce d'EV qui influencaient<br/>spécifiquement le  $C_{mic}$  (observé uniquement dans le sol argileux).

Traitamont	Cultu	***	Sol ar	gileux	Sol sableux		
Inditement	Cuitu	ies	Phi-Ca	STP	Phi-Ca	STP	
SL(n-6)	Incubation		+7 %	-8%	+15 %	+38%	
SI (n=6)	Maïs		+10%	+55%	-53%	+33%	
	EV	Lupin	-1 %	+2 %	-	-	
		Avoine	-25%	-14%	-	-	
		Pois Moutarde	-17 %	-19%	-	-	
		Toutes les espèces d'EV	-	-	-19%	-10%	
SC (n=8)	Maïs	Résidus de Moutarde	-37%	-2 %	-	-	
		Résidus d'avoine, lupin et pois	-30%	-21 %	-	-	
		Résidus de toutes les espèces d'EV	_	-	-9%	-5 %	

une moindre mesure que pour les sols incubés dont le P a été prélevé seulement par la culture de mais (fig. 2). En revanche, le Phi-Ca et le STP ont diminué le P-NaHCO<sub>3</sub> à la fin de la culture d'EV dans les sols argileux (fig. 2), tandis que la teneur en P organique a augmenté (Fontana et al., 2021a), ce qui semble indirectement lié. L'accumulation de Porganique pourrait être la conséquence d'un «turnover microbien» plus important avec le Phi-Ca et le STP, comme en atteste la plus forte minéralisation du  $C_{Org}$  (tabl. 2). Cette diminution de  $C_{Org}$  pourrait expliquer la diminution du P-NaHCO3 avec le Phi-Ca et le STP comparativement au contrôle (fig. 2), car la matière organique, chargée négativement, favorise la mobilisation et la disponibilité du P en entrant en compétition avec les sites de sorption du P ainsi qu'en formant des chélates avec le P (Guppy et al., 2005; Von Wandruszka, 2006). Toutefois, la diminution du P-NaHCO<sub>3</sub> durant la culture de maïs a été moins importante avec le Phi-Ca et le STP comparativement au contrôle, ce qui a eu pour résultat une différence non significative entre le Phi-Ca et le contrôle à la fin de la culture de maïs (fig. 2). Dans l'ensemble, cette étude montre que le Phi-Ca a eu un effet similaire ou supérieur au STP sur le P-NaHCO<sub>3</sub> à la fin des cultures d'EV et de maïs dans des conditions de sol contrastées.

 Tableau 4 | Taux de décomposition (%) des résidus des espèces

 d'engrais vert à la fin de la culture de maïs pour les traitements

 phosphite de calcium (*Phi-Ca*), super triple phosphate (*STP*) et

 Contrôle.

	9	ol argileu	x	Sol sableux			
	Phi-Ca	STP	Contrôle	Phi-Ca	STP	Contrôle	
Avoine	73 A	78 A	80 A	76 A	75 A	74 A	
Lupin	94 A	93 A	92 A	93 AB	91 A	97 B	
Moutarde	81 A	88 A	79 A	83 A	84 A	88 A	
Pois	82 A	83 A	78 A	79 A	83 AB	86 B	

Différentes lettres indiquent des différences significatives (p < 0.05) entre les traitements de fertilisation pour le même type de sol et la même espèce d'engrais vert.

## Conclusions

En examinant la possibilité de revaloriser le Phi-Ca en source de phosphate grâce à l'effet des micro-organismes du sol durant une culture d'EV, cette étude fait figure de pionnière. Le Phi-Ca a influencé la biomasse microbienne et la minéralisation de la matière organique de manière similaire au STP, suggérant que le Phi-Ca n'a pas eu d'impact négatif majeur sur la fertilité biologique. De plus, le Phi-Ca a augmenté les teneurs en P disponible pour les cultures de façon similaire au STP dans le sol sableux et de manière plus importante dans le sol argileux, probablement à cause d'un relargage du P plus lent avec le Phi-Ca. Enfin, cette étude montre que le temps d'une culture d'EV est suffisant pour oxyder le phosphite issu du Phi-Ca en phosphate et que l'effet positif de l'EV sur la culture de maïs n'a pas été affecté par le Phi.

Compte tenu de l'ordonnance qui interdira l'ajout de phosphite dans les engrais à partir du 1<sup>er</sup> janvier 2024 (OFAG, communication personnelle), l'oxydation de la totalité du phosphite (en phosphate) devrait être finali-

sée durant le procédé de fabrication d'un engrais phosphaté. Les résultats de cette étude suggèrent que cette alternative est envisageable, car ils soulignent l'efficacité des micro-organismes pour oxyder un sel de phosphite pourtant non soluble à l'eau (le Phi-Ca se dissout à un pH <2) par des flores microbiennes contrastées. Ainsi, il semble fort probable qu'un sel de phosphite soluble ou non soluble à l'eau puisse être oxydé en quelques semaines en présence d'un support organique (p.ex. compost, déjections animales, bois raméal fragmenté, résidus de biométhanisation, etc.). De plus, la pureté du Phi-Ca représente un avantage environnemental important, car l'utiliser comme base pour un engrais phosphaté permettrait d'éviter les problèmes liés aux métaux traces souvent présents dans les fertilisants phosphatés distribués en Suisse. De cette façon, un engrais phosphaté à base de Phi-Ca oxydé pourrait probablement remplir les conditions d'homologation d'un engrais de recyclage (c'est-à-dire que la teneur en phosphite pourrait être inférieure à 0,5 %, OFAG communication personnelle).

#### **Bibliographie**

- Adams, F., Conrad, J.P., 1953. Transition of phosphite to phosphate in soils. *Soil Science* **75**, 361.
- Anastassiades, M., Kolberg, D., Benkenstein, A., Eichhorn, E., Zechmann, S., Mack, D., Wildgrube, C., Sigalov, I., Dörk, D., Barth, A., 2015. Quick method for the analysis of numerous highly polar pesticides in foods of plant origin via LC-MS/MS involving simultaneous extraction with methanol (QuPPe-method). EU reference laboratory for pesticides requiring single residue methods (EURL-SRM). CVUA, Stuttgart, Germany.
- Arai, Y., Sparks, D., 2007. Phosphate reaction dynamics in soils and soil components: A multiscale approach. Advances in agronomy 94, 135–179.
- Avila, F.W., Faquin, V., Araujo, J.L., Marques, D.J., Júnior, P.M.R., da Silva Lobato, A.K., Ramos, S.J., Baliza, D.P., 2011. Phosphite supply affects phosphorus nutrition and biochemical responses in maize plants. *Australian Journal* of Crop Science 5, 646–653. https://search.informit.org/doi/10.3316/informit.281781719761645
- Barrett, S., Shearer, B., Hardy, G.S., 2004. Phytotoxicity in relation to in planta concentration of the fungicide phosphite in nine Western Australian native species. Australasian *Plant Pathology* 33, 521–528. https://doi.org/10.1071/ AP04055
- Beauchemin, S., Simard, R., 1999. Soil phosphorus saturation degree: Review of some indices and their suitability for P management in Quebec, Canada. *Canadian Journal of Soil Science* 79, 615–625.
- Büchi, L., Gebhard, C.-A., Liebisch, F., Sinaj, S., Ramseier, H., Charles, R., 2015. Accumulation of biologically fixed nitrogen by legumes cultivated as cover crops in Switzerland. *Plant and soil* 393, 163–175. https://doi.org/10.1007/ s11104-015-2476-7
- Childers, D.L., Corman, J., Edwards, M., Elser, J.J., 2011. Sustainability challenges of phosphorus and food: solutions from closing the human phosphorus cycle. *Bioscience* 61, 117–124.
- Clarholm, M., 1985. Interactions of bacteria, protozoa and plants leading to mineralization of soil nitrogen. Soil Biology and Biochemistry 17, 181–187.

- Cordell, D., Drangert, J.-O., White, S., 2009. The story of phosphorus: global food security and food for thought. *Global environmental change* 19, 292–305.
- Costas, A.M.G., White, A.K., Metcalf, W.W., 2001. Purification and characterization of a novel phosphorus-oxidizing enzyme from Pseudomonas stutzeri WM88. *Journal of Biological Chemistry* 276, 17429–17436. https://doi. org/10.1074/jbc.M011764200
- Defra, A., 2010. Fertiliser manual (RB209). Fertiliser manual.
- Dendooven, L., Ramirez-Fuentes, E., Alcantara-Hernandez, R., Valenzuela-Encinas, C., Sánchez-López, K.B., Marco, L.-G., Ruíz-Valdiviezo, V.M., 2015. Dynamics of 14c-labelled glucose and NH+ 4 in a regularly flooded extremely alkaline saline soil. *Pedosphere* 25, 230–239.
- Estrada-Ortiz, E., Trejo-Téllez, L., Gómez-Merino, F., Núñez-Escobar, R., Sandoval-Villa, M., 2013. The effects of phosphite on strawberry yield and fruit quality. *Journal of soil science and plant nutrition* 13, 612–620.
- Faucon, M.-P., Houben, D., Lambers, H., 2017. Plant functional traits: soil and ecosystem services. *Trends in plant science* 22, 385–394. https://doi. org/10.1016/j.tplants.2017.01.005
- Fontana, M., Bragazza, L., Guillaume, T., Santonja, M., Buttler, A., Elfouki, S., Sinaj, S., 2021a. Valorization of calcium phosphite waste as phosphorus fertilizer: Effects on green manure productivity and soil properties. *Journal* of Environmental Management 285, 112061. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112061
- Fontana, M., Guillaume, T., Bragazza, L., Elfouki, S., Santonja, M., Buttler, A., Gerdol, R., Brancaleoni, L., Sinaj, S., 2021b. Legacy effect of green manure crops fertilized with calcium phosphite on maize production and soil properties. *Journal of Environmental Management* 295, 113092.
- Gallet, A., Flisch, R., Ryser, J., Frossard, E., Sinaj, S., 2003. Effect of phosphate fertilization on crop yield and soil phosphorus status. *Journal of Plant Nutrition* and Soil Science 166, 568–578.

- Gilbert, G.A., Knight, J.D., Vance, C.P., Allan, D.L., 2000. Proteoid root development of phosphorus deficient lupin is mimicked by auxin and phosphonate. *Annals of Botany* 85, 921–928.
- Gilbert, N., 2009. The disappearing nutrient. Nature 461, 716–718. https:// doi.org/doi:10.1038/461716a
- Gómez-Merino, F.C., Trejo-Téllez, L.I., 2015. Biostimulant activity of phosphite in horticulture. *Scientia Horticulturae* **196**, 82–90. https://doi.org/10.1016/j. scienta.2015.09.035
- Guppy, C.N., Menzies, N., Moody, P.W., Blamey, F., 2005. Competitive sorption reactions between phosphorus and organic matter in soil: a review. *Soil Research* 43, 189–202.
- Hardy, G.S.J., Barrett, S., Shearer, B., 2001. The future of phosphite as a fungicide to control the soilborne plant pathogen Phytophthora cinnamomi in natural ecosystems. *Australasian Plant Pathology* 30, 133–139.
- Jemo, M., Abaidoo, R.C., Nolte, C., Tchienkoua, M., Sanginga, N., Horst, W.J., 2006. Phosphorus benefits from grain-legume crops to subsequent maize grown on acid soils of southern Cameroon. *Plant and soil* 284, 385–397. https://doi.org/10.1007/s11104-006-0052-x
- Jenkinson, D.S., Brookes, P.C., Powlson, D.S., 2004. Measuring soil microbial biomass. Soil Biology & Biochemistry 36, 5–7.
- Johannes, A., Matter, A., Schulin, R., Weisskopf, P., Baveye, P.C., Boivin, P., 2017. Optimal organic carbon values for soil structure quality of arable soils. Does clay content matter? *Geoderma* 302, 14–21.
- Keerthisinghe, G., Hocking, P., Ryan, P., Delhaize, E., 1998. Effect of phosphorus supply on the formation and function of proteoid roots of white lupin (Lupinus albus L.). Plant, *Cell & Environment* 21, 467–478.
- Koppelaar, R., Weikard, H., 2013. Assessing phosphate rock depletion and phosphorus recycling options. Global Environmental Change 23, 1454–1466.
- Krebs, H., Musa, T., Vogelgsang, S., Forrer, H.-R., 2013. Lutte sans cuivre contre le mildiou de la pomme de terre en culture biologique? *Recherche Agronomique Suisse* 238.
- Lambers, H., Plaxton, W.C., 2018. Phosphorus: back to the roots. Annual Plant Reviews online 3–22.
- Lobato, M., Olivieri, F., Daleo, G., Andreu, A., 2010. Antimicrobial activity of phosphites against different potato pathogens. *Journal of Plant Diseases and Protection* 117, 102–109.
- MacIntire, W., Winterberg, S., Hardin, L., Sterges, A., Clements, L., 1950. 2412321. Fertilizer evaluation of certain phosphorus, phosphorous, and phosphoric materials by means of pot cultures. *Agronomy journal* 42, 543–549.
- Marschner, H., 2012. Marschner's mineral nutrition of higher plants. Academic press, London.
- Massonneau, A., Langlade, N., Léon, S., Smutny, J., Vogt, E., Neumann, G., Martinoia, E., 2001. Metabolic changes associated with cluster root development in white lupin (Lupinus albus L.): relationship between organic acid excretion, sucrose metabolism and energy status. *Planta* 213, 534–542.
- Mayer, J., Zimmermann, M., Weggler, K., Reiser, R., Bürge, D., Bucheli, T., Richner, W., 2019. Valeurs limites pour les engrais de recyclage minéraux: le concept suisse. *Recherche agronomique suisse* 10, 4–11.
- Miller, C.R., Ochoa, I., Nielsen, K.L., Beck, D., Lynch, J.P., 2003. Genetic variation for adventitious rooting in response to low phosphorus availability: potential utility for phosphorus acquisition from stratified soils. *Functional Plant Biology* 30, 973–985. https://doi.org/10.1071/FP03078
- Morais, F.A., Gatiboni, L.C., 2015. Phosphorus availability and microbial immobilization in a Nitisol with the application of mineral and organo-mineral fertilizers. Anais da Academia Brasileira de Ciências 87, 2289–2299.
- Murphy, J., Riley, J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica chimica acta* 27, 31–36. https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)88444-5
- Olsen, S.R., 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. US Department of Agriculture.
- Ouimette, D., Coffey, M., 1989. Phosphonate levels in avocado (Persea americana) seedlings and soil following treatment with fosetyl-Al or potassium phosphonate. *Plant Disease* 73, 212–215.

- Poehlein, A., Daniel, R., Schink, B., Simeonova, D.D., 2013. Life based on phosphite: a genome-guided analysis of Desulfotignum phosphitoxidans. *BMC genomics* 14, 1–14. https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-753
- Poeplau, C., Bolinder, M., Kirchmann, H., Kätterer, T., 2016. Phosphorus fertilisation under nitrogen limitation can deplete soil carbon stocks: evidence from Swedish meta-replicated long-term field experiments.
- Puget, P., Drinkwater, L., 2001. Short-term dynamics of root-and shoot-derived carbon from a leguminous green manure. *Soil Science Society of America Journal* 65, 771–779. https://doi.org/10.2136/sssaj2001.653771x
- Ratjen, A.M., Gerendás, J., 2009. A critical assessment of the suitability of phosphite as a source of phosphorus. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 172, 821–828. https://doi.org/10.1002/jpln.200800287
- Roger, A., Pluchon, S., Yvin, J., Benbrahim, M., Kremer, L., Sinaj, S., 2016. Effets d'un nouvel engrais phosphaté sur la nutrition et le rendement du blé. *Recherche Agronomique Suisse* 7, 316–321.
- Schink, B., Friedrich, M., 2000. Phosphite oxidation by sulphate reduction. *Nature* 406, 37–37.
- Schroetter, S., Angeles-Wedler, D., Kreuzig, R., Schnug, E., 2006. Effects of phosphite on phosphorus supply and growth of corn (Zea mays). *Landbauforschung Volkenrode* 56, 87.
- Sinaj, S., Bürkert, A., El-Hajj, G., Bationo, A., Traore, H., Frossard, E., 2001. Effects of fertility management strategies on phosphorus bioavailability in four West African soils. *Plant and soil* 233, 71–83.
- Sinaj, S., Charles, R., Baux, A., Dupuis, B., Hiltbrunner, J., Levy, L., Pellet, D., Blanchet, G., Jeangros, B., 2017. 8/Fertilisation des grandes cultures. Principes De Fertilisation Des Cultures Agricoles En Suisse (PRIF 2017). *Recherche Agronomique Suisse* 8, 1–9.
- Sinaj, S., Frossard, E., Fardeau, J., 1997. Isotopically exchangeable phosphate in size fractionated and unfractionated soils. *Soil Science Society of America Journal* 61, 1413–1417.
- Smillie, R., Grant, B., Guest, D., 1989. The mode of action of phosphite: evidence for both direct and indirect modes of action on three Phytophthora spp. in plants. *Phytopathology* **79**, 921–926.
- Stoven, K., Schroetter, S., Panten, K., Schnug, E., 2007. Effect of phosphite on soil microbial enzyme activity and the feeding activity of soil mesofauna. *Landbauforschung Volkenrode* 57, 127.
- Team, R.C., 2013. R (Version 3.0. 1)[Software].
- Thi Bich Thao, H., Yamakawa, T., Shibata, K., 2009. Effect of phosphite–phosphate interaction on growth and quality of hydroponic lettuce (Lactuca sativa). *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 172, 378–384.
- Ticconi, C.A., Delatorre, C.A., Abel, S., 2001. Attenuation of phosphate starvation responses by phosphite in Arabidopsis. *Plant Physiology* 127, 963–972. https://doi.org/10.1104/pp.010396
- Vance, E.D., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil biology and Biochemistry* 19, 703– 707. https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90052-6
- Von Wandruszka, R., 2006. Phosphorus retention in calcareous soils and the effect of organic matter on its mobility. *Geochemical transactions* 7, 1–8. https://doi.org/10.1186/1467-4866-7-6
- Wendling, M., Büchi, L., Amossé, C., Jeangros, B., Walter, A., Charles, R., 2017. Specific interactions leading to transgressive overyielding in cover crop mixtures. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 241, 88–99. https://doi. org/10.1016/j.agee.2017.03.003
- Wendling, M., Büchi, L., Amossé, C., Sinaj, S., Walter, A., Charles, R., 2016. Influence of root and leaf traits on the uptake of nutrients in cover crops. *Plant* and Soil 409, 419–434.
- Yang, K., Metcalf, W.W., 2004. A new activity for an old enzyme: Escherichia coli bacterial alkaline phosphatase is a phosphite-dependent hydrogenase. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101, 7919–7924. https:// doi.org/10.1073/pnas.0400664101