

Les émissions de N₂O sont fortes notamment dans l'élevage et l'agriculture française, avec environ 20% des émissions des GES en France, et 10% de production de N₂O par les processus de nitrification et dénitrification (Pellerin et al. 2013). On peut estimer les émissions globales de N₂O provenant des sols remaniés à 3,3 Tg N₂O par an à la surface de la Terre (Stehfest et Bouwman, 2006). L'agriculture, y compris les prairies gérées, représente une part très importante des émissions de GES, en partie à cause de l'utilisation des fertilisants azotés (Smith et al, 2010). De fait, la communauté scientifique s'accorde pour dire que la gestion des intrants en prairies est un levier essentiel pour atténuer la production des GES d'origine agricole, et ainsi réduire les risques liés au changement climatique (Pellerin et al. 2013). Le chaulage pourrait permettre de diminuer la production de GES à travers des modifications de la structure et des activités de la communauté microbienne (Barton et al, 2013). Certaines études au laboratoire ont mis en évidence une diminution des émissions de N₂O suite à un apport de chaulage dans le sol (Van den Heuvel et al, 2011, Barton et al. 2013). Néanmoins, l'impact du chaulage sur les émissions de GES au champ reste largement inconnu.

3) L'importance des prairies permanentes

Le sujet de mon stage porte sur les prairies, et plus précisément les prairies permanentes. La prairie permanente est un écosystème dominé par des plantes herbacées (notamment des graminées), ressemé naturellement ou cultivé mais sans avoir été retournée au moins pendant 5 ans (Peyraud et al, 2012). En France, la surface des prairies permanentes est estimée à 9,90 millions d'hectare selon FAOSTAT et 8,11 millions d'ha selon Eurostat. Cette surface représente environ 30% de la SAU (Surface Agricole Utile) et fournit de l'alimentation pour les troupeaux d'élevage (bovins et ovins), ce qui lui donne une importance économique majeure. La prairie permanente fournit également des services environnementaux car elle représente une réserve de biodiversité, que ce soit végétale ou animale, et peut stocker du carbone, environ 2,7 t eq CO₂/ha par an (Peyraud et al, 2012).

Le défi qui se présente est d'identifier les modalités de gestion permettant une plus forte valorisation des services rendus par les écosystèmes prairiaux (production fourragère, biodiversité), tout en minimisant les effets secondaires qui menacent l'environnement (production de GES).

Si les effets potentiels du chaulage sur le système plante-sol sont bien documentés pour des parcelles

labourées, l'impact du chaulage sur le cycle des éléments et le fonctionnement des prairies permanentes reste encore flou.

4) Objectifs et mission du stage

L'objectif de mon stage est d'étudier les effets du chaulage sur les prairies permanentes, et notamment sur les émissions de N_2O et de CO_2 dans ces écosystèmes. Mon projet repose sur un dispositif expérimental qui permet d'étudier les impacts de différents amendements calciques (Calcimer, Dolomie), et de comparer le fonctionnement prairial sur deux types de sols contrastés (Laqueuille - forte teneur en matière organique du sol ; Theix - teneur en MO du sol réduite). Les résultats de cette expérimentation contribueront au projet MAGGE-pH détaillé en première partie de ce rapport.

Durant ce stage, j'ai été chargé de trois missions. La première était de réaliser un suivi des émissions de N_2O et CO_2 sur le dispositif expérimental présent sur place, qui est détaillé dans la partie 'Matériel et Méthodes'. J'ai été responsable d'analyser au total 12 campagnes de mesure, et j'ai pu en réaliser 9 (les trois premières ont été faites avant le début de mon stage). La seconde mission était de mesurer le pH du sol dans les différents traitements expérimentaux (avec ou sans chaux), et donc de voir l'évolution de ce facteur physico-chimique. Enfin, la dernière mission consistait à étudier la biomasse du couvert végétal, en fonction du sol et du traitement. Ces travaux se sont réalisés en collaboration avec l'aide de l'équipe technique du centre d'accueil.



Figure 3 : Dispositif expérimental composé de 30 mésocosmes

Matériel et Méthodes

1) Design expérimental

Le dispositif expérimental sur lequel j'ai travaillé a été mis en place en 2017 à l'INRA-Clermont-Ferrand, sur le site de Crouël (45°46'31.1"N 3°08'38.6"E, 350m d'altitude). Le dispositif est composé de 30 mésocosmes, c'est-à-dire de pots remplis avec du sol, du sable et de la pouzzolane (voir Figure 3). Le sol a été utilisé pour y faire pousser des plantes, tandis que le sable et la pouzzolane ont été mis au fond des pots pour améliorer le drainage.

Chaque mésocosme comprend également 6 espèces de graminées, planté au début de l'expérimentation : *Poa trivalis*, *Poa pratensis*, *Lolium perenne*, *Trisetum flavescens*, *Festuca rubra* et *Dactylis glomerata*.

Ceci représente une communauté 'modèle' de prairie. De fait, ces espèces coexistent, et sont courantes, dans les prairies de moyenne montagne du Massif Central. Le protocole de cette expérimentation suit un design factoriel afin d'étudier les effets du chaulage (Témoin, Calcimer en poudre tamisé, Dolomie en poudre tamisé), du sol (Andosol-Laqueuille, Cambisol-Theix) et de l'interaction de ces deux traitements. Chaque traitement comprend cinq répétitions.

Pour cette expérimentation, nous avons utilisé deux produits basiques, appliqués pour avoir le même effet neutralisant. Le premier est la Calcimer, qui est une chaux d'origine marine composé essentiellement de CaCO_3 . Le deuxième produit est la Dolomie, composé de carbonate de magnésium et de Ca, provenant de la dolomie qui est une roche sédimentaire calcaire. Le chaulage a été appliqué deux fois : la première en février 2017 et la seconde en février 2018.

Les deux types de sol dans cette expérimentation sont issus de prairies permanentes de moyenne montagne. Le sol de Theix (45°42'18"N, 3°01'19"E, 900m d'altitude) est un Cambisol, avec un pH d'environ 5,9. Le sol de Laqueuille (45°39'03"N, 2°44'00"E, 1024m d'altitude) est un Andosol, qui est un sol humique riche en matière organique, avec un pH de 5,6.

Durant toute l'expérimentation, les mésocosmes ont été arrosés régulièrement pour que les plantes ne soient pas limitées en eau. La fertilisation azotée a été apportée en début juin 2017 (30 N unit/ha eq) et fin mai 2018 (50 N unit/ha eq).

2) Mesures de flux N₂O et CO₂

Durant la saison de croissance de 2018 (du 16 avril 2018 au 6 juillet 2018), 12 campagnes de mesures de la respiration de l'écosystème (CO₂ émis par le système plante-sol) et du protoxyde d'azote (N₂O) ont été réalisés sur 24 des 30 mésocosmes expérimentaux. Ceci correspond à 4 des 5 répétitions par traitement. Les mesures de flux ont été effectuées à l'aide de 3 chambres manuelles opaques (pot cylindrique de 42L, polyéthylène). Ces chambres de mesures ont été percées à mi-hauteur afin d'insérer un raccord rapide permettant le branchement à l'analyseur de gaz (1412 photoacoustic multi-gaz analyzer, INNOVA, AIR Tech Instruments, Ballerup, Danemark).

Les campagnes de mesure ont été réalisées principalement en milieu de journée, pour éviter un fort contraste de température entre le début et la fin de chaque campagne de mesures (ce qui pourrait induire un biais dans les mesures). Les mesures ont été effectuées selon le protocole suivant : trois premiers pots (un Témoin, un Calcimer, et un Dolomie d'un même sol) ont été mesurés simultanément.

La série de 3 pots suivante était de l'autre type de sol, et ainsi de suite. Durant la mesure : une première chambre était placée sur un pot, reliée à l'analyseur de gaz via un tube en téflon. L'INNOVA va pomper l'air dans la chambre durant une vingtaine de secondes. Cette dernière s'appuie sur la spectroscopie photoacoustique, et part de la propriété des gaz à absorber la lumière infrarouge à une longueur d'onde donnée. Grâce à des filtres optiques, l'INNOVA filtre la lumière à la longueur d'onde correspondant aux gaz que l'on cherche à analyser. Pour pomper dans une chambre différente, il suffit de changer et mettre manuellement le tube sur une autre chambre. Sept passages ont été réalisés sur chaque pot ce qui correspond à un temps de fermeture des chambres de 20 minutes sur chaque mésocosme. Une campagne de mesures complète dure environ 2h30, auquel il faut rajouter une demi-heure de temps de chauffe de l'analyseur avant de démarrer les mesures.

Une fois les mesures faites, il faut traiter les données brutes (concentration des gaz) pour obtenir les émissions de N₂O et CO₂. De fait les flux de CO₂ et N₂O ont été calculés par régression linéaire entre les concentrations et le temps. Cette solution nous permet d'obtenir des pentes et des r² pour chaque mésocosme (donc chaque sol et traitement) et pour chaque date. Les valeurs de flux de CO₂ ont été retenues seulement si la régression est significative (p<0.05, r²>0.95). Les régressions représentant les concentrations de CO₂ en fonction du temps ont aussi été utilisées comme critère de contrôle car un r² faible indique un problème d'étanchéité dans les pots.

Pour le N₂O, les valeurs de flux ont été retenues si la régression est significative ($p < 0.05$) et si le r^2 est supérieur à 0.7 (suivant Cantarel et al, 2011). Ce choix tient compte du fait que les émissions de N₂O sont beaucoup plus faibles et variable que ceux du CO₂. La pente sera ensuite utilisée pour calculer les flux de CO₂ et N₂O par unité de surface en prenant en compte la température de l'air et de la pression au moment de la mesure.

3) Etude de la biomasse végétale

La biomasse est un paramètre qui est important pour notre expérimentation. Cela va nous permettre de savoir si le sol et/ou le traitement ont une influence sur le développement du couvert végétal. Pour se faire, une coupe a été faite fin mai, à 5cm de hauteur, pour obtenir l'ensemble du couvert végétal dans chaque pot. Les échantillons de biomasse ont été séché à l'étuve (60°C, 48h) puis pesés pour calculer la biomasse (g/m²) pour chaque mésocosme.

4) Mesure du pH

Pour le pH, nous avons réalisés des prélèvements de sol le 20 juin 2018 dans chaque mésocosme dans la couche de sol de 0-10cm avec un carottier de diamètre 1.5 cm. Les échantillons de sol frais ont été placés dans des sacs ziplocs et stockés dans une chambre froide en attendant leur analyse.

Les mesures de pH sont réalisées selon un protocole standard (Robertson et al, 1999). On pèse 10 grammes de sol frais dans un pilulier avec le numéro d'échantillon dessus. On rajoute 20ml d'eau pure à tous les piluliers, et on met à agiter durant 10 minutes dans un agitateur orbital à une vitesse moyenne de 280 tours/minute. Après cette agitation, on laisse reposer la solution durant 30 minutes. La dernière étape est la mesure du pH, que l'on fait via un pH-mètre. Afin d'obtenir la valeur, on plonge la sonde du pH-mètre (préalablement calibré) dans la solution eau/sol et on attend que la valeur se stabilise.

5) Analyses statistiques

Les effets du sol et du chaulage sur la biomasse et le pH ont été étudiés en faisant une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs. Les deux facteurs sont le sol (Theix ou Laqueuille) et le traitement chaulage (Témoin, Calcimer et Dolomie). Cette analyse de variance s'accompagne du test de Shapiro-Wilk pour évaluer la normalité des données et du test de Bartlett pour l'homoscédasticité des valeurs.

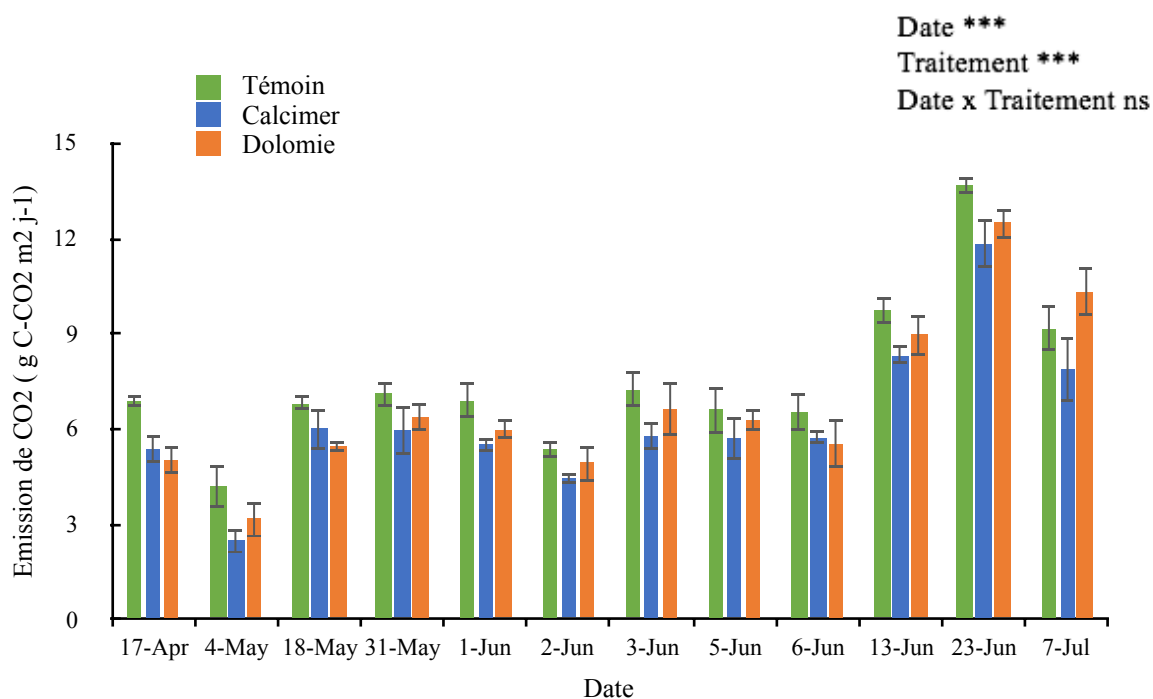


Figure 6 : Impact des traitements de chaulage sur les émissions de CO₂ provenant du sol de Laqueuille. Les moyennes et erreurs standards sont présentées pour chaque traitement (n = 4)

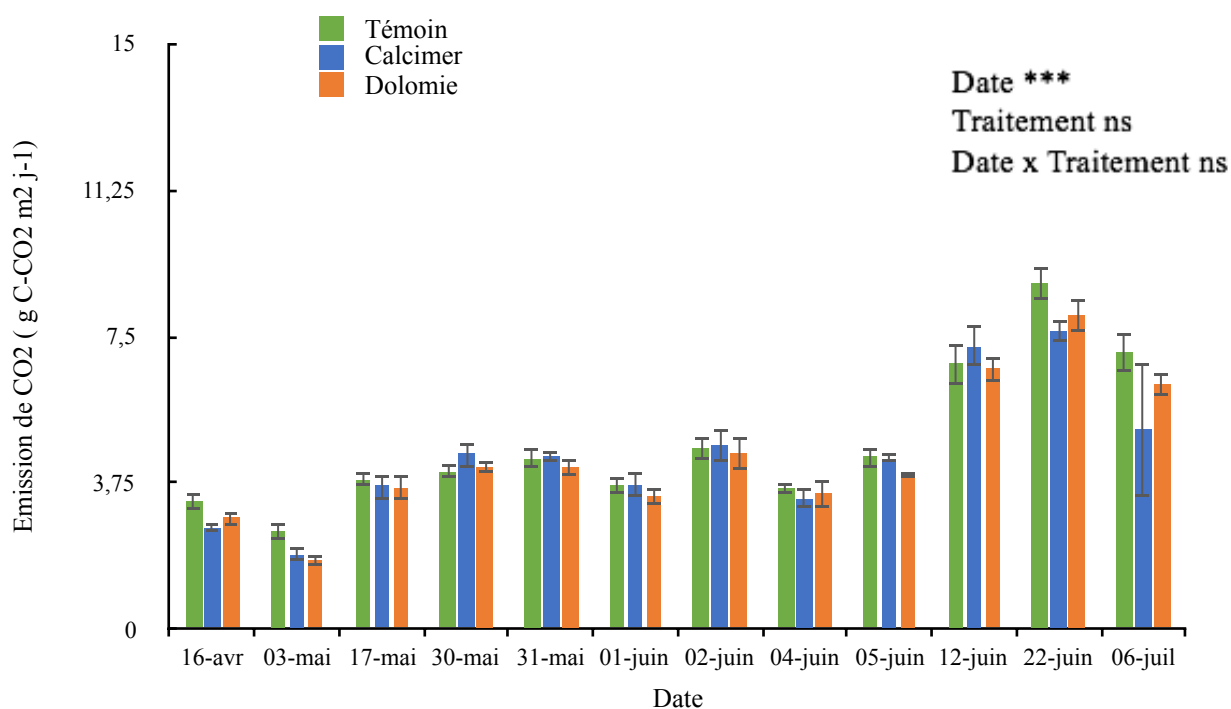


Figure 7 : Impact des traitements de chaulage sur les émissions de CO₂ provenant du sol de Theix. Les moyennes et erreurs standards sont présentées pour chaque traitement et date de mesure (n = 4)

Pour ce qui est de l'effet de ces deux facteurs sur les émissions de CO₂, une analyse statistique a été réalisée avec un test ANOVA 2 avec comme facteur la date et le traitement. Ce test a été fait séparément pour chaque sol. Dans le cas des émissions de N₂O, les données n'étaient pas conformes à la normalité, et n'ont pas pu être transformés pour réaliser un test paramétrique. Les effets du chaulage sur les émissions de N₂O ont donc été étudiés en réalisant un test de Kruskal-Wallis à chaque date de mesures, et pour chaque sol séparément.

Résultats

1) Emissions de N₂O et CO₂

Les émissions de N₂O et CO₂ ont été suivies sur 12 dates, réparties sur 2 mois, avec une régularité d'environ 2 semaines. Les résultats sont présentés en Figure 6 et 7.

Pour le sol de Laqueuille (Figure 6), on observe une différence significative entre les émissions de CO₂ en fonction des dates de mesures ($F_{11,108} = 60.3837$, $p < 0.001$). On aura également une différence significative en fonction du traitement ($F_{2,108} = 17.011$, $p < 0.001$). Par rapport au témoin, on a une baisse de 10,88% des émissions avec de la Dolomie et de 16,84% des émissions avec la Calcimer.

Pour le sol de Theix (Figure 7), tout comme Laqueuille, il y a une différence significative entre les émissions de CO₂ en fonction de la date ($F_{11,108} = 36.256$, $p < 0,001$). Il y a une tendance vers une réduction des émissions avec les deux produits de chaulage, mais cet effet n'est pas significatif ($F_{2,108} = 2.817$, $p = 0,06419$).

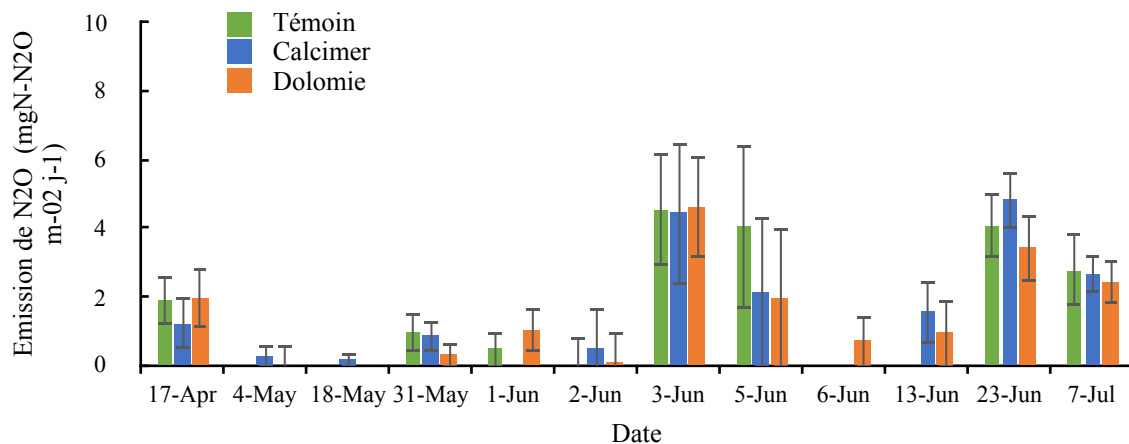


Figure 8 : Impact des traitements de chaulage sur les émissions de N₂O sur le sol de Laqueuille. Les moyennes et erreurs standards sont présentées pour chaque traitement et date de mesure (n = 4)

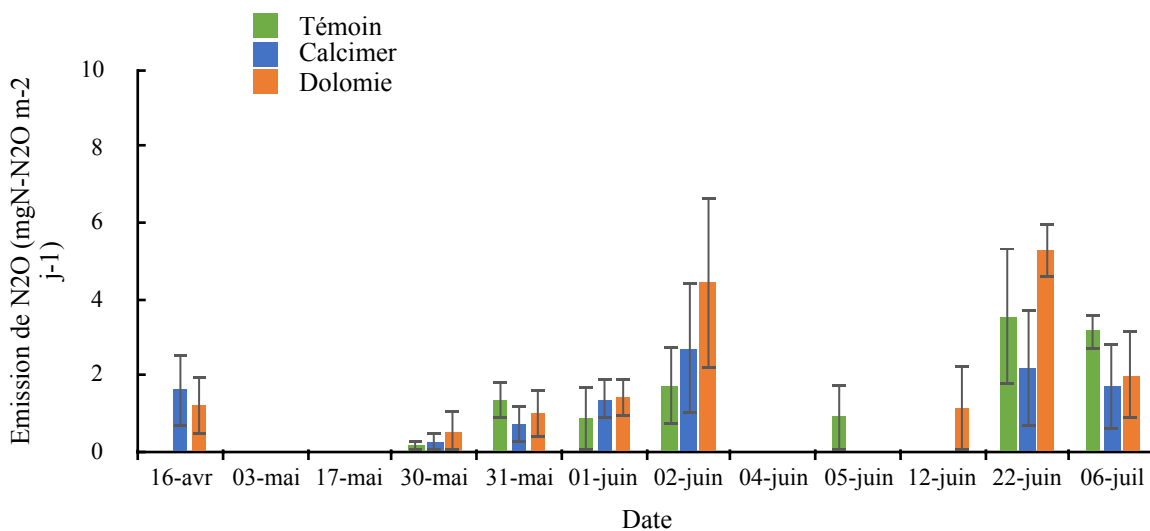


Figure 9 : Impact des traitements de chaulage sur les émissions de N₂O pour Theix. Les moyennes et erreurs standards sont présentées pour chaque traitement et date de mesure (n= 4)

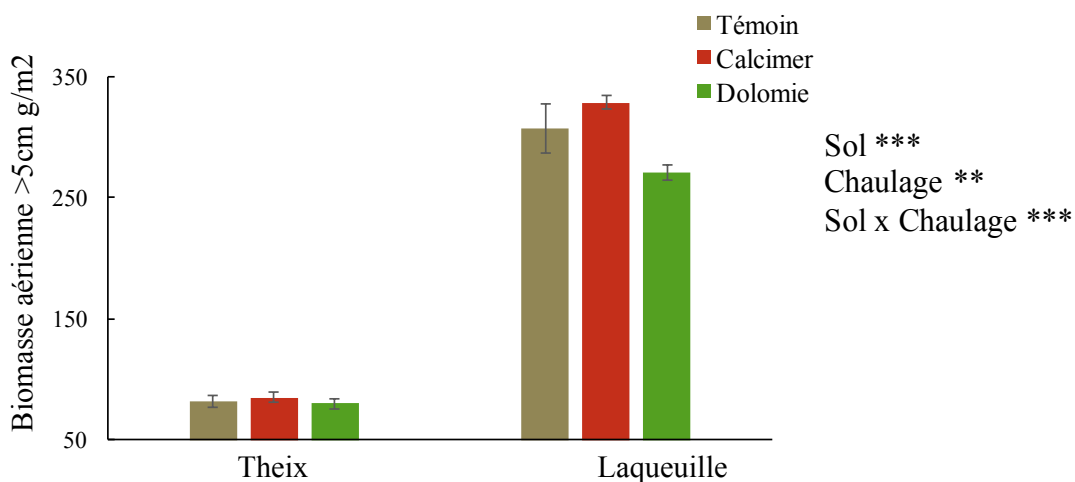


Figure 10 : Impact des traitements de chaulage sur la biomasse végétale au pic de biomasse deux types de sols. Les moyennes et erreurs standards sont présentées pour chaque traitement. (n = 5)

Quel que soit le traitement de chaulage et le type de sol, il y a une grande variabilité dans les émissions de N_2O au cours du temps (Figures 8 et 9). Les valeurs obtenues après l'utilisation du test de Kruskal-Wallis pour les émissions montrent des p-value au-dessus du seuil de 5%. Il n'y aura donc pas d'influence du traitement sur ces émissions, quel que soit la date ou le type de sol. En général, les émissions de N_2O sont plus importantes après l'apport d'engrais azoté, et pendant les périodes chaudes (à partir de début juin).

2) Biomasse végétale

La biomasse montre une différence significative entre le sol de Theix et celui de Laqueuille ($F_{1,24} = 833.61$, $p < 0.001$). En moyenne, le sol de Laqueuille produit trois fois plus de biomasse végétale que le sol de Theix (Figure 10). Le traitement de chaulage a un aussi un impact sur la biomasse, mais cet impact dépend du type de sol (interaction sol x chaulage, $F_{2,24} = 5.6157$, $p = 0.009$). Pour Laqueuille, la biomasse est plus faible avec l'apport de Dolomie comparé au témoin (Figure 2). En revanche pour Theix, les valeurs de biomasse restent très proche (autour de 80 g/m^2), ce qui montre que le traitement 'chaulage' avec ce sol n'influence pas, ou très peu, la biomasse.

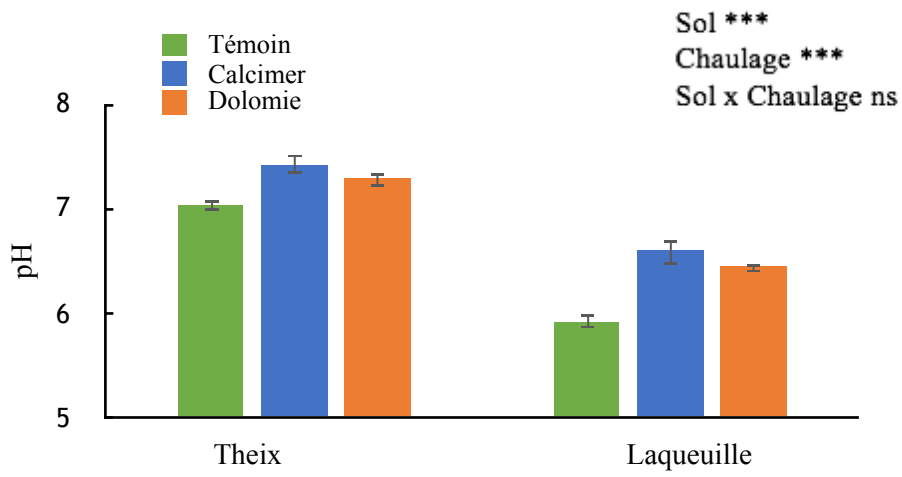


Figure 11 : Impact des traitements de chaulage sur le pH des sols de Theix et Laqueuille. Les moyennes et erreurs standards sont présentées pour chaque traitement. (n = 5)

3) Mesures de pH

Les résultats de pH montrent une différence significative entre les deux sols ($F_{1,24} = 220.4635$, $p < 0.001$). Pour le sol de Theix, les valeurs sont au-dessus de pH 7 alors que pour Laqueuille les valeurs oscillent entre 5,9 et 6,5 (Figure 11). On aura également une influence du traitement, avec une différence significative entre les 3 traitements ($F_{1,24} = 23.6767$, $p < 0.001$). On aura une hausse du pH dans les deux sols avec la Calcimer et la Dolomie par rapport au témoin. Cependant, il n'y a aucune interaction entre le sol et le traitement pour le pH ($F_{2,24} = 1.5023$, $p = 0.2428$)

Conclusions-Perspectives

La chaux est une pratique agricole permettant de rehausser le pH des sols acides. Nos expérimentations ont bien montré que c'était le cas (cf Figure 11). Pour ce qui est de la biomasse, on a des résultats discordants entre les différents sols (cf Figure 10). Les différents traitements de chaulage ont plus d'influence sur le sol de Laqueuille où l'on voit une différence significative entre les traitements, ce qui n'est pas le cas sur le sol de Theix. Cela pourrait s'expliquer par le fait que le sol de Laqueuille est bien plus acide que le sol de Theix, et donc que la chaux est plus efficace dans ce sol.

Les émissions de N_2O et CO_2 sont très disparates en fonction des jours, ce qui est cohérent avec d'autres expérimentations en prairie (par exemple Cantarel et al. 2011). Ceci peut s'expliquer par des différentes conditions météorologiques au cours du temps, et une variabilité dans la température de l'air et du sol qui influence les activités microbiennes. Le chaulage a plus d'impact sur les émissions de CO_2 que de N_2O . Les émissions de CO_2 , avec le chaulage, sont inférieures au témoin, surtout au niveau du site de Laqueuille.

En comparant avec notamment les résultats obtenus durant la thèse d'Iris Lochon de l'année dernière (données non-publiées), on peut voir que le pH est encore plus haut cette année. On peut donc penser que la seconde application de chaux permet de rehausser encore plus le pH. Quant aux émissions de CO_2 , les résultats sont semblables à ceux de l'année dernière avec une forte influence de la date mais aussi du traitement avec une baisse d'environ 15% des émissions. Pour le N_2O , seul la date influence les émissions.

Les résultats de ce projet suggèrent que l'application de la dolomie a un impact négatif sur la production des prairies en milieu acide mais les deux produits basiques contribuent à réduire les émissions de GES (baisse des émissions de CO₂). Le chaulage semble donc une piste prometteuse pour réduire les GES dans les prairies sur sol acide. Dans les sols moins acides, le chaulage n'a pas d'effet sur la production, et l'impact sur les émissions de CO₂ est moindre.

Des futurs projets doivent être conduits dans des conditions naturels, et non dans un dispositif expérimental. De ce fait, les résultats qui seront obtenus avec des communautés végétales naturelles permettront de voir si les résultats sur notre plateforme expérimentale s'appliquent au champ.

Réflexion personnelle

Ce stage a été en parfaite adéquation avec mon parcours universitaire. En effet, ayant suivi une licence d'écologie, avec des cours d'écologie, d'environnement, ce stage comprenait certaines facettes de mon cursus (écologie, étude de sol, flux d'azote). De ce fait, j'ai pu mettre en avant et en application mes connaissances dans les différents domaines utiles à ce stage. De plus, il m'a permis de travailler et de préciser mon projet professionnel. Ayant suivi une licence écologie, je souhaitais continuer dans cette voie-là, en lien avec la biologie végétale. Le sujet du stage, et plus généralement les notions vues, m'intéresse fortement. On peut penser à la gestion durable des écosystèmes notamment, ou à l'optimisation des pratiques agricoles. L'étude des écosystèmes, que ce soit d'un point de vue écologique ou environnementale (avec toutes les préoccupations actuelles) est un domaine qui me plaît et où je veux continuer par la suite.

Durant mon stage, j'ai pu découvrir des techniques de mesure de flux par exemple, mais aussi mettre en application des techniques scientifiques de mesure de biomasse et pH (vu durant mon cursus universitaire). L'étude de flux, via la méthode de l'INNOVA, a été une découverte étant donné que cette méthode est peu répandue. Le fait de mettre en application mes connaissances, m'a permis de mieux comprendre ces techniques et leurs buts précis. J'ajoute également que ce stage a été pour moi une opportunité de découvrir le monde du travail, que ce soit de façon autonome ou en équipe.

Cette période de 2 mois a été très bénéfique pour moi, et mon projet professionnel, car je souhaite continuer dans cette voie là et ce domaine.

Références bibliographiques

1. Barth V., Reardon C., Coffey T., Klein M., McFarland C., Huggins D., Sullivan T. (2018). Stratification of soil chemical and microbial properties under no-till after liming. *Applied Soil Ecology*.
2. Barton L., Gleeson D.B., Maccarone L.B., Zuniga L.P., Murphy D.V. (2013). Is liming soil a strategy for mitigating nitrous oxide emissions from semi-arid soils? *Soil Biology and Biochemistry*. **62** : pp 28-35
3. Bremner JM. (1997). Sources of nitrous oxide in soils. *Nutr Cycl Agroecosyst*. **49** : pp 7-156
4. Cantarel A., Bloor J., Deltroy N., Soussana J.F. (2011). Effects of climate change drivers on nitrous oxide fluxes in an Upland temperate grassland. *Ecosystems*. **14** : pp 223-233
5. Crémer S., Knoden D., Luxen P. (2008) Les amendements basiques ou chaulage des prairies. *Filière Ovine et Caprine*. **26** : pp 20-22
6. Fierer N., Jackson R. (2006). The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *PNAS*. **103** : pp 626-631
7. GIEC. 2001. In : McCarthy JJ., Canzani OF., Leary NA., Dokken DJ., White KS., Eds. Climate change 2001 : contribution of the working group II to the third assessment report of the intergovernmental panel on climat change. Cambridge, United Kingdom, New York, NY, USA : Cambridge University Press. 1032p
8. Haynes RJ., Naidu R. (1998) Influence of lime, fertilizer and manure applications on soil organic matter content and soil physical conditions: a review. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* **51**: 123–137
9. Rapport sur l'état du sol (2011). Groupe d'intérêt scientifique. 192p
10. Pellerin S. Bamière L, Angers D., Benoit M. (2013) Quelle contribution de l'agriculture française à la réduction des émissions de gaz à effet de serre? Potentiel d'atténuation et coût de dix actions techniques. *Rapport de recherche INRA*. 92p
11. Peyraud JL., Peeters A., De Vliegheer A. (2012). Place et atouts des prairies permanentes en France et en Europe. *Fourrages*. 211 : 195-204

12. Smith KA, Crutzen PJ, Mosier A, Winiwarter W. The global N₂O budget: A reassessment. In: Nitrous Oxide and Climate Change. Eds. Smith K., London: *Earthscan*. 2010b; ISBN 9781844077571
13. Stehfest E., Bouwman L. (2006) N₂O and NO emission from agricultural fields and soil under natural vegetation: summarizing available measurement data and modeling of global annual emissions. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. **74** : pp 207-228
14. Temegne N.C., Ngome F., Fotso Kuate A. (2015) Influence de la composition chimique du sol sur la teneur en éléments nutritifs et le rendement du manioc (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiaceae) dans deux zones agro-écologiques du Cameroun. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* **9(6)** : pp 2776-2788.
15. Van Den Heuvel RN, Bakker SE, Jetten MSM, Hefting MM. (2011) Decreased N₂O reduction by low soil pH causes high N₂O emissions in a riparian ecosystem. *Geobiology*. **9**: 294-300.