



HAL
open science

Émissions de composés organiques volatils biogéniques (COVb) par les sols agricoles. DICOV (APR Primequal) : Rôle de la diversité microbienne et de la composition biochimique de la matière organique dans les émissions de COVb

Sophie Sadet-Bourgeteau, Benjamin Loubet, Letizia Abis, Virginie Nowak, Julie Tripied, Sabine Houot, Laurence Galsomiès, Cornelia Rumpel, Pauline Buysse, Raluca Ciuraru, et al.

► To cite this version:

Sophie Sadet-Bourgeteau, Benjamin Loubet, Letizia Abis, Virginie Nowak, Julie Tripied, et al.. Émissions de composés organiques volatils biogéniques (COVb) par les sols agricoles. DICOV (APR Primequal) : Rôle de la diversité microbienne et de la composition biochimique de la matière organique dans les émissions de COVb. ADEME. 2020, pp.36. hal-04607761

HAL Id: hal-04607761

<https://institut-agro-dijon.hal.science/hal-04607761>

Submitted on 11 Jun 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ÉMISSIONS DE COMPOSES ORGANIQUES VOLATILS BIOGENIQUES (COVB) PAR LES SOLS AGRICOLES

DICOV (APR Primequal) : Rôle de la diversité
microbienne et de la composition biochimique
de la matière organique dans les émissions de
COVb

RAPPORT

Avril
2020



EXPERTISES

REMERCIEMENTS

Le projet DICOV « Déterminants des émissions de COV biogéniques au niveau des sols agricoles : Rôle de la diversité microbienne et de la composition biochimique de la matière organique » soutenu par l'ADEME s'inscrit dans le programme de recherche PRIMEQUAL de l'appel à projets édition 2016 dédié au thème « *Agriculture et qualité de l'air : Evaluation, impacts, gestion et décision* ».

Les principaux partenaires de l'étude DICOV sont :

- L'institut national de recherche agronomique (INRAE de Dijon, UMR Agroécologie et INRAE Grignon, UMR ECOSYS) ;
- L'institut de l'écologie et des sciences de l'environnement de Paris (IEES Paris).

L'ensemble des membres du comité de pilotage de l'étude DICOV sont remerciés (par ordre alphabétique) :

- Abis Letizia (INRAE Grignon, UMR ECOSYS) ;
- Bourgeteau-Sadet Sophie (INRAE Dijon, UMR Agroécologie) ;
- Buysse Pauline (INRAE Grignon, UMR ECOSYS) ;
- Ciuraru Raluca (INRAE Grignon, UMR ECOSYS) ;
- Galsomiès Laurence (ADEME) ;
- Gros Valérie (Laboratoire des sciences du climat et de l'environnement, UMR 8212) ;
- Houot Sabine (INRAE Grignon, UMR ECOSYS) ;
- Lafouge Florence (INRAE Grignon, UMR ECOSYS) ;
- Loubet Benjamin (INRAE Grignon, UMR ECOSYS) ;
- Maron Pierre-Alain (INRAE Dijon, UMR Agroécologie) ;
- Rumpel Cornelia (IEES Paris).

Nous remercions également les équipes techniques des laboratoires ECOSYS, INRAE Dijon et IEES Paris, ainsi que Véronique Depluche, technicienne recrutée par le projet DICOV, pour le travail fourni.

CITATION DE CE RAPPORT

Sadet-Bourgeteau S., Loubet B., Abis L., Nowak V., Tripied J., Houot S., Galsomiès L., Rumpel C., Buysse P., Ciuraru R., Lafouge F. et Maron PA. 2020. Émissions de composés organiques volatils biogéniques (COVb) par les sols agricoles. DICOV (APR Primequal) : Rôle de la diversité microbienne et de la composition biochimique de la matière organique dans les émissions de COVb. Rapport, 36 pages.

Cet ouvrage est disponible en ligne www.librairie.ademe.fr



Toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause est illicite selon le Code de la propriété intellectuelle (art. L 122-4) et constitue une contrefaçon réprimée par le Code pénal. Seules sont autorisées (art. 122-5) les copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé de copiste et non destinées à une utilisation collective, ainsi que les analyses et courtes citations justifiées par le caractère critique, pédagogique ou d'information de l'oeuvre à laquelle elles sont incorporées, sous réserve, toutefois, du respect des dispositions des articles L 122-10 à L 122-12 du même Code, relatives à la reproduction par reprographie.

Ce document est diffusé par l'ADEME

ADEME

20, avenue du Grésillé

BP 90 406 | 49004 Angers Cedex 01

Numéro de contrat : 1662c0020

Étude réalisée par Sadet Bourgeteau, Loubet, Abis, Nowak, Tripied, Houot, Rumpel, Buysse, Ciuraru, Lafouge et Maron pour ce projet cofinancé par l'ADEME

Projet de recherche coordonné par : Sophie Sadet Bourgeteau

Appel à projet de recherche : PRIMEQUAL : PProgramme de Recherche Interorganisme pour une MEilleure Qualité de l'Air

Coordination technique - ADEME : GALSOMIÈS Laurence (Docteur)

Direction Villes et Territoires Durables / Service de la Qualité de l'air



SOMMAIRE

RÉSUMÉ	5
ABSTRACT	6
1. Contexte.....	7
2. Méthodologie.....	7
2.1. Dispositifs et méthodologies expérimentales	7
2.1.1 Le site Qualiagro.....	7
2.1.2 Effet du niveau de diversité - Première phase en milieu contrôlé.....	9
2.1.3 Seconde phase : expérimentation sur sols non remaniés.....	10
2.2. Mesures relatives aux composés organiques volatils	12
2.2.1 Dispositif de mesure de COV - expérimentation première phase.....	13
2.2.2 Dispositif de mesure de COV - expérimentation deuxième phase	14
2.2.3 Spécificités et réglages du PTR-Qi-TOF-MS	14
2.2.4 Analyse des pics et calibration du PTRMS.....	14
2.2.5 Calcul des émissions par les microcosmes	15
2.2.6 Identification des COV.....	15
2.3. Quantité et composition de la matière organique des sols	15
2.4. Mesures relatives à la communauté microbienne des sols.....	16
2.5. Analyses statistiques.....	16
3. Bilan / Principaux résultats.....	18
3.1. Effet de la diversité des communautés microbiennes du sol sur les émissions de COV	
.....	18
3.1.1 Analyse physico-chimique des sols prélevés et composition moléculaire des MOS	18
3.1.2 Analyse de la communauté microbienne.....	20
3.1.3 Émissions de composés organiques volatils (COV)	22
3.1.4 Conclusions	24
3.2. Mesures au champ des évolutions conjointes de COV, diversité et propriétés des sols	
.....	24
3.2.1 Analyse physico-chimique des sols prélevés.....	24
3.2.2 Analyse de la communauté microbienne.....	26
3.2.3 Quantités totales des COV émis.....	27
3.2.4 Diversité des COV émis et composés les plus émis.....	27
3.2.5 Analyse de la composition de la Matière Organique	29
3.2.6 Partition de variance	30
4. Recommandations	31
5. Conclusions	31
Références bibliographiques	32
Index des tableaux et figures	33
Sigles et acronymes	34



RÉSUMÉ

L'augmentation importante des polluants atmosphériques, tels que les particules fines ou les composés gazeux comme les composés organiques volatils (COV), constitue aujourd'hui l'une des principales préoccupations environnementales et sanitaire au niveau planétaire. Les sols agricoles émettent des COV. Toutefois, les processus menant à ces émissions sont peu connus. Différents facteurs peuvent influencer le profil d'émission de COV comme l'humidité, le pH mais également l'activité des microorganismes présents. Cette activité étant probablement dépendante de la diversité microbienne et de la composition de la matière organique du sol (MOS), nous avons testé l'hypothèse, qu'il existe un lien entre les « profils » d'émissions de COV, la diversité microbienne et la composition de la matière organique (MO) présente dans les sols. Aujourd'hui ce lien est très peu étudié et reste encore à démontrer.

Afin de contribuer à la mise en évidence de ce lien, le projet DICOV s'est décliné en deux étapes. L'ensemble des échantillons de sol ont été prélevés sur le site expérimental de QualiAgro (SOERE PRO). QualiAgro est un agrosystème épandant depuis plusieurs années maintenant divers Produits Résiduaux Organiques (PRO). Des études antérieures ont mis en évidence que l'apport de produits résiduaux organiques avait des impacts sur (i) la communauté microbienne des sols, (ii) la composition de la matière organique et (iii) les profils d'émission de COV. Dans le projet DICOV, les PRO représentaient la pierre angulaire permettant potentiellement de mettre en évidence un lien entre ces trois entités.

Concrètement, la première étape du projet a eu lieu au laboratoire en milieu contrôlé. Un gradient de diversité a été établi par une manipulation des communautés microbiennes selon une approche de dilution-extinction. Des mesures de COV ont été réalisées en parallèle. Les résultats obtenus montrent que la quantité de COV émis est plus importante dans des sols présentant une diversité microbienne faible. D'autre part, ces sols contenant une diversité microbienne moindre, auraient également des profils d'émission de COV différents avec une diversité de composés émis plus faible.

La deuxième étape du projet a eu lieu sur le terrain. Tous les mois, pendant un an, des prélèvements de sols et des mesures de COV ont été réalisés sur des parcelles ayant été amendées avec différents types d'amendements organiques.

Les résultats obtenus montrent une faible variation des quantités de COV émises au cours du temps, contrairement à la diversité des composés émis et aux profils d'émission.



ABSTRACT

The significant increase in air pollutants such as fine particulate, gaseous compounds (nitrogen oxides, ozone, ammonia ...) or volatile organic compounds (VOC) is one of the main environmental and health concerns. However, knowledge and estimates of VOC emissions from these soils are uncertain. Different factors such as soil humidity and pH influence the quantity and the quality of VOC emissions profiles. However, other factors, less apparent, can also impact these profiles. Indeed, biological VOC emissions from soils are due to the activity of soil microorganisms. This activity is in turn dependent of soil microbial diversity and soil organic matter (SOM) composition. Thus, it appears that VOC emissions profiles are dependent of soil microbial diversity and SOM composition. However, the dependence of these three compartments remains poorly studied and still needs to be demonstrated.

In this context, we proposed the DICOV project, which was divided in two parts where all soil samples were from QualiAgro experimental site (SOERE PRO). QualiAgro is an agrosystem where organic waste products (PRO) are spread of soil. It is known that the addition of PRO to the soil impacts *(i)* microbial diversity, *(ii)* composition of the MOS, and *(iii)* VOC emission profiles. Within this project, use of PRO was therefore contributed to the demonstration of a potential link between these three entities.

More precisely, the first part of the project took place at the laboratory, under controlled conditions (soil microcosms), and consisted in evaluating the impact of PRO input on VOC emission depending on the diversity of soil microbial communities. For this goal, a gradient of diversity has been established by manipulating soil microbial communities by an approach of dilution to extinction. This allowed to control one of the parameters studied, i.e. microbial diversity, to facilitate the identification of the link between this parameter, the composition of SOM and VOC emission profiles. We found that reduced levels of microbial diversity in soil increased VOC emissions from soils, while the number of different VOCs emitted decreased.

The second part took place on the field to validate and complete findings obtained under controlled conditions. During one year, soil samples and VOC measures were monthly collected in each plots.

Our results highlighted that over the year, quantities of VOC emitted were similar, but not VOC emission profiles.



1. Contexte

La qualité de l'air est actuellement un enjeu majeur tant sur le plan sanitaire qu'environnemental. En effet, l'exposition à des polluants engendre des problèmes de santé publique tels que des affections et insuffisances respiratoires, des maladies cardio-vasculaires, de l'asthme, des cancers... et environnementaux comme une diminution de la croissance chez les végétaux, des nécroses foliaires, des pluies acides, des perturbations des écosystèmes aquatiques et terrestres.

De par son activité, l'Homme contribue à cette pollution atmosphérique, mais les polluants atmosphériques ont également une origine naturelle. Ainsi, les éruptions volcaniques, les plantes, les incendies, ..., sont connus pour être des sources de polluants dans l'atmosphère et influencent donc la qualité de l'air. Les polluants dans l'air sont nombreux : particules fines, composés gazeux (oxydes d'azote, ozone, ammoniac...), composés organiques volatils (COV). Les COV font partie des principaux polluants atmosphériques. Les émissions de COV sont réglementées tant au niveau international (Protocole de Göteborg), européen (Par exemple la Directive n°2001/81/CE du 23 octobre 2001) que national. Cependant, malgré les mesures prises, la pollution aux particules fines, à laquelle participent les COV, augmente. Les sources d'émission des COV d'origine naturelle (COV biogénique) représentent environ 90 % des émissions de COV contre 10 % pour les activités humaines (Fuentes et al., 2000). Si les sources anthropiques sont relativement bien connues, il n'en est pas de même pour les sources naturelles dont la connaissance et les estimations présentent de grandes incertitudes (Simpson et al., 1995). Ceci est particulièrement vrai pour les émissions de COV par les sols (Leff and Fierer, 2008; Insam and Seewald, 2010) et notamment les sols agricoles car ces sols reçoivent des apports de matière organique propices aux émissions (soit sous forme de fertilisation soit sous forme de résidus de cultures), favorables aux émissions de COV (Faiola, 2014) et qu'ils sont régulièrement exposés à l'atmosphère suite aux labours ou semis.

Le présent projet propose de compléter le peu de données existantes quant à la quantification et la qualification des émissions de COV par les sols agricoles. Il est connu que les microorganismes du sol, de par leur activité de décomposition de la matière organique contribuent pour une part importante aux émissions de COV par les sols (Leff and Fierer, 2008). Il a été également observé que la diversité des microorganismes présents dans le sol influence la décomposition de certains composés de la matière organique des sols (MOS) (Baumann et al., 2013). Dès lors la diversité microbienne et la qualité biochimique des matières organiques des sols apparaissent comme deux facteurs clef dans la modulation des flux de COV biogéniques émis. Le présent projet propose donc d'évaluer l'impact de ces composantes du sol dans la quantité et la qualité des flux de COV biogéniques émis, mais aussi d'effectuer une hiérarchisation de ces composantes.

2. Méthodologie

Le projet DICOV consiste en une évaluation du rôle de la diversité microbienne et de la composition biochimique de la matière organique des sols (MOS) dans la modulation de l'intensité et de la composition des flux de COV émis par ces sols. Il s'est appuyé sur le site QualiAgro du service PRO d'ANAEE France et le service PTRMS d'ANAEE France. Ce projet a été organisé en deux étapes successives : une première étape consistant à étudier l'effet du niveau de diversité sur les émissions de COV en conditions standardisées de laboratoire, et une seconde étape consistant à suivre la dynamique des communautés microbiennes, de la matière organique des sols et des émissions de COV au cours d'un cycle cultural en se rapprochant au mieux des conditions de terrain (sols non remaniés et conditions ambiantes).

2.1. Dispositifs et méthodologies expérimentales

Ce projet a été mené dans le cadre du SOERE-PRO (Système d'observation et d'expérimentation sur le long terme pour la recherche en environnement – Produit Résiduaire Organique). Le SOERE-PRO est un réseau de quatre sites principaux instrumentés (QualiAgro en Île-de-France, la plateforme de Colmar en Alsace, EFELE en Bretagne, La Mare à la Réunion) inclus dans l'infrastructure ANAEE France et trois sites associés (La Bouzule en Lorraine, Couhins en Aquitaine, Gampéla au Burkina Faso). Ces sites à l'échelle de la parcelle permettent de mesurer, depuis plus de 10 ans pour certains, l'évolution des différents compartiments (sol, plantes, eau, air, produits résiduaire organique PRO) d'un agrosystème soumis à épandage de produits résiduaire organique. Ces sites sont localisés en France métropolitaine mais également en conditions plus tropicales (La Réunion et Burkina Faso). Le projet DICOV proposé s'appuie sur un des sept sites existants : QualiAgro.

2.1.1 Le site Qualiagro



QualiAgro est un dispositif de six hectares (Figure 1) comprenant quatre blocs de 10 parcelles correspondant à différents traitements organiques :

- Apport de compost d'ordures ménagères résiduelles/ MSW (compostage d'ordures ménagères résiduelles après collecte sélective des emballages « propres et secs ») ;
- Apport de compost de boue d'épuration/ GWS (co-compostage de déchets verts et/ou broyats de palettes et/ou rafles de maïs et de boues d'épuration urbaines) ;
- Apport de compost de biodéchets / BIO (compostage de la fraction fermentescible des ordures ménagères collectée sélectivement en mélange avec des déchets verts) ;
- Apport de fumier de bovins/ FYM, amendement organique de référence ;
- Aucun amendement organique/ CON.

Le dispositif QualiAgro est formé de deux sous-essais (PRO et LEG) en blocs à quatre répétitions. Chaque bloc inclut tous les amendements organiques et une parcelle témoin. Les parcelles font 45 mètres de long et 10 mètres de large. Elles sont espacées de six mètres. Deux blocs sont espacés de 25 mètres. Au sein d'un demi-bloc, les cinq traitements sont répartis de façon aléatoire (Figure 1).

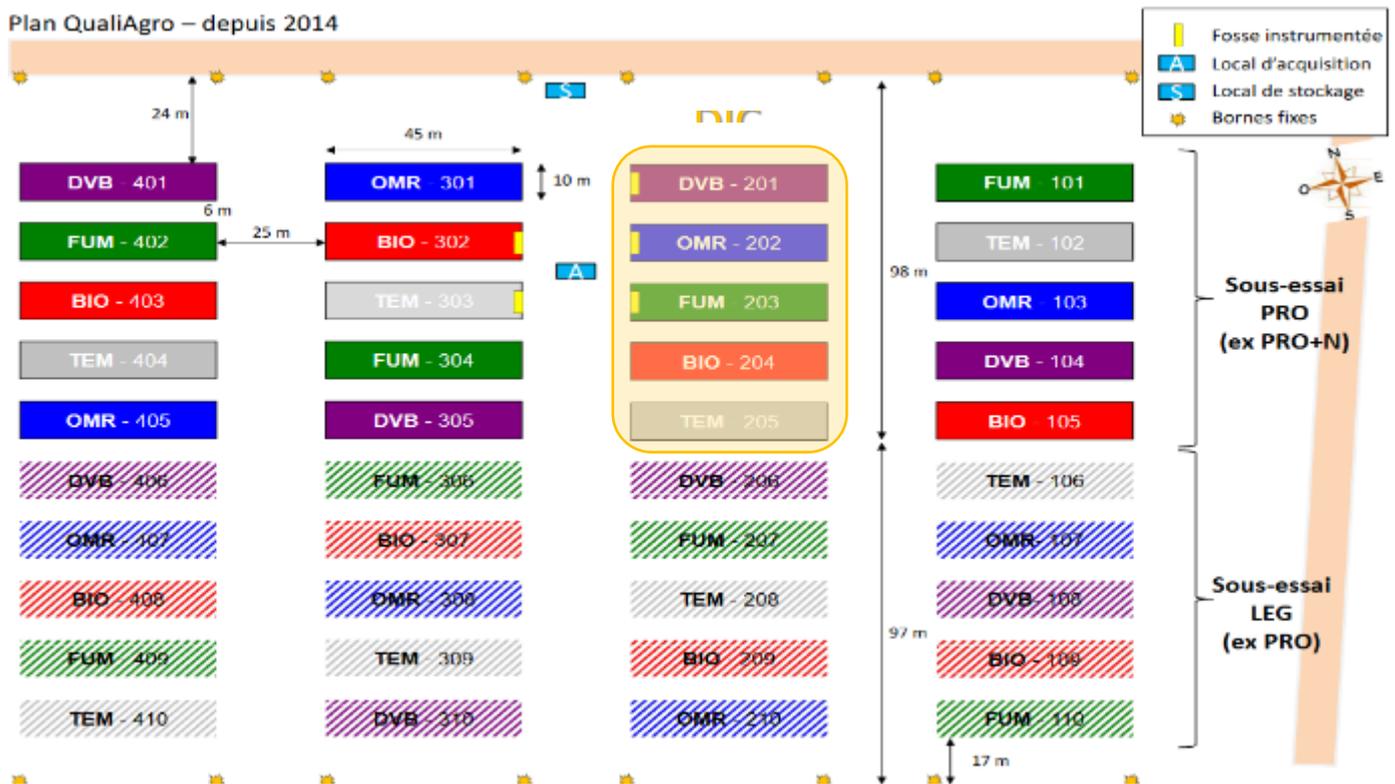


Figure 1 : Plan du dispositif expérimental QualiAgro (Resseguier, Mercier)

Toutes les parcelles du sous-essai PRO subissent le même travail du sol (labour, binage, déchaumage), il n'y a pas de différenciation selon les traitements. Le Tableau 1 **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** précise les successions culturales et les épandages de PRO bisannuels depuis 2013.

Date	Essai «PRO »
Septembre 2013	EPANDAGE
Interculture 2013/2014	Moutarde
2014	Maïs
2014 - 2015	Escourgeon
Septembre 2015	EPANDAGE

2015 - 2016	Seigle
2016 - 2017	Orge de printemps
Septembre 2017	EPANDAGE
2017 - 2018	Maïs

Tableau 1 : Successions culturales et épandages de PRO du site Qualiagro

2.1.2 Effet du niveau de diversité - Première phase en milieu contrôlé

La première étape, réalisée courant 2017, a eu lieu en milieu contrôlé. Il s'agissait d'évaluer l'impact de l'apport de PRO sur l'émission de COV (intensité et composition des flux) en fonction du niveau de diversité des communautés microbiennes du sol. Pour cela, un gradient de diversité a été établi par une manipulation des communautés microbiennes selon une approche de dilution-extinction (Baumann et al., 2013; Philippot et al., 2013; Vivant et al., 2013; Tardy et al., 2014). Ce dispositif permet de maîtriser l'un des paramètres étudiés, ici la diversité microbienne, afin de faciliter la mise en évidence d'un lien entre ce paramètre, la composition de la MOS et les profils d'émission de COV. Concrètement les sols provenant des différentes parcelles du site QualiAgro ont été prélevés en Septembre 2016, un an après le dernier apport de PRO (parcelles témoin (CON) et amendées (FYM, BIO, MSW, et GWS)). Ces différents sols ont été stérilisés par radiation gamma. Le sol stérile a ensuite été utilisé pour constituer des microcosmes qui ont été inoculés par différentes dilutions de suspensions de ces mêmes sols non stériles (Figure 2). Trois niveaux de dilution de diversité ont ainsi été testés : fort (D0) / intermédiaire (D1) / faible (D2).



Figure 2 : Photos illustrant l'expérimentation de manipulation de dilution de diversité

Après inoculation, les sols ont été pré-incubés afin de permettre à la communauté inoculée de coloniser les microcosmes et de se stabiliser à des niveaux de densité comparables quelle que soit la dilution utilisée pour l'inoculation (i.e. capacité biotique du sol). Après une incubation de trois semaines, les COV émis par les différents microcosmes ont été mesurés. Au sein de chaque microcosme, l'abondance et la diversité des communautés microbiennes présentes, ainsi que la composition biochimique de la matière organique ont été mesurés.



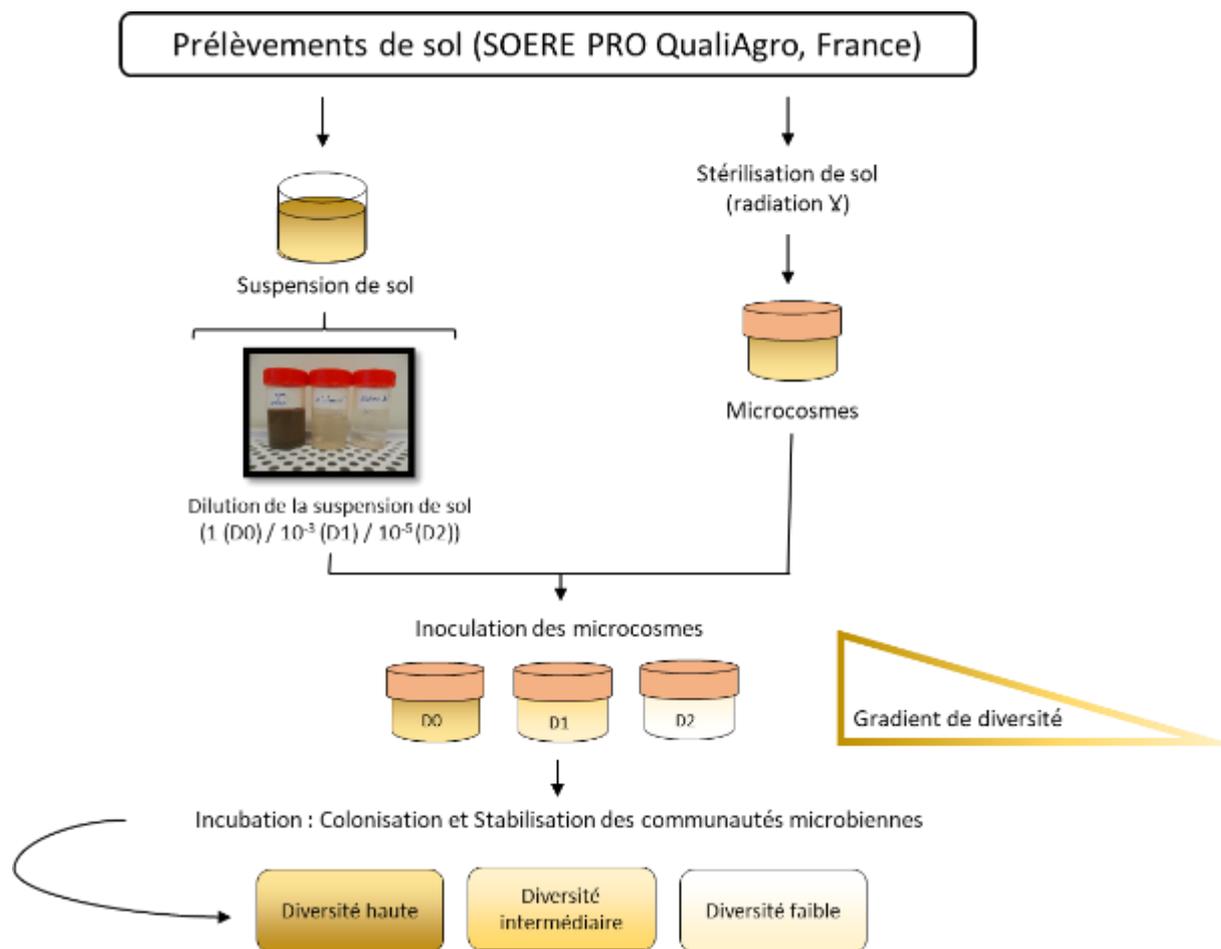


Figure 3 : Manipulation de la diversité microbienne des sols

2.1.3 Seconde phase : expérimentation sur sols non remaniés

La deuxième étape, a été réalisée sur des sols structurés, non remaniés pendant un cycle cultural entier (automne 2017 à juin 2018) afin de valider et compléter les résultats obtenus en milieu contrôlé. Il s'agissait d'évaluer l'effet de différents facteurs (apport de PRO, température, labour, semis ...) sur les émissions de COV par les sols, toujours en lien avec la diversité microbienne et la matière organique présentes dans les sols.

- **Cycle de culture / interventions culturales**

Après un précédent orge (récolté le 26 juillet 2017), les PRO ont été épanchés les 11 et 12 septembre 2017 puis enfouis le 13 septembre 2017 par déchaumage à l'aide d'un déchaumeur Horsch Terrano 6 FG 5,70 m (1 passage). Un labour, d'une profondeur de 26-27 cm par charrue six socs, a été réalisé le 5 février 2018. Le maïs (variété LG30273) a été semé le 08 mai 2018 (80000 grains/ha) après reprise de labour et préparation du lit de semence. Un binage par écrouteuse-houe rotative (1 passage) a été effectué le 16 mai 2018. Pour information, une partie des parcelles a subi un apport d'engrais organique (Axe NP+bio 6 % d'Azote) le 22 mai 2018. Cependant les résultats montrés dans ce rapport sont issus uniquement des portions de parcelles non fertilisées.

Les données météorologiques (rayonnement (pyranomètre CMP3, Kipp & Zonen, Allemagne), température et humidité de l'air (thermomètre-hygromètre HMP155a, Vaisala, Finlande), température (thermistance CS107, Campbell, Royaume-Uni) et teneur en eau (sondes TDR CS650, Campbell, Royaume-Uni) du sol) ont été suivies en continu par l'infrastructure du SOERE PRO QualiAgro (5).

- **Prélèvements**

Afin de préserver leur structure, les sols ont été prélevés à l'aide d'un cylindre en inox de 15 cm de diamètre enfoncé à 7 cm dans le sol (surface 177 cm²). Trois cylindres de chaque modalité de sol (des parcelles 201, 202, 203, 204, 205 du bloc 2) ont été prélevés pour des mesures de COV en laboratoire, 7 jours avant l'apport des PRO, puis 3, 8, 21, 48, 84, 121, 189, 224 et 267 jours après l'apport de PRO. La quantité de sol prélevé variait entre 1 et 2 kg de sol sec par cylindre. Il était prévu un prélèvement final en été qui n'a pu être réalisé en raison de la mauvaise conjonction entre conditions météorologiques (sols très secs trop friables) et indisponibilité du personnel ou du matériel.

Après prélèvement, les cylindres ont été conservés entre deux plaques de PVC dans une enceinte thermostatée à la température du sol de la veille mesurée à 10 cm de profondeur, en attendant la mesure de COV (maximum 5 heures après leur prélèvement). Cette température a été extraite de la base de données du réseau Climatik de la station météorologique de Thiverval-Grignon, située à moins de 10 km du site Qualiagro.

Après les mesures de COV, les sols ont été pesés puis stockés à -20°C avant d'être lyophilisés. La teneur en humidité a été déterminée puis les sols ont été broyés afin d'être aliquotés pour procéder aux mesures microbiologiques, physico-chimiques et de matières organiques. Ces mesures ont été effectuées seulement à -7, 8, 21, 48, 189, 267 jours après l'apport de PRO. L'ensemble des mesures réalisées et des principales opérations culturales est recensé dans le Tableau 2 et illustré par la Figure 4. Des mesures météorologiques sont réalisées en continu sur le site Qualiagro. La Figure 5 montre l'évolution des variables clés au cours de la période de suivi et de prélèvement : température de l'air, précipitation, rayonnement et humidité du sol.

Date	Jour après apport	Opérations sur la parcelle	Temp. en °C	N° plvmt	COV	Teneur en eau	Micro biologie	Matières organiques	Physico-chimie
05/09/17	J-7	Prélèvement de sol	20.0	P1	X	X	X	X	X
11/09/17	-	Epandage PRO (BIO, GWS)	-	-	-	-	-	-	-
12/09/17	J0	Epandage PRO (FYM,MSW,CON,)	-	-	-	-	-	-	-
13/09/17	-	Enfouissement	-	-	-	-	-	-	-
15/09/17	J3	Prélèvement de sol	15.0	P2	X	X	-	-	-
20/09/17	J8	Prélèvement de sol	15.2	P3	X	X	X	X	X
03/10/17	J21	Prélèvement de sol	16.7	P4	X	X	X	X	X
30/10/17	J48	Prélèvement de sol	13.2	P5	X	X	X	X	X
05/12/17	J84	Prélèvement de sol	6.1	P6	X	-	-	-	-
11/01/18	J121	Prélèvement de sol	7.4	P7	X	-	-	-	-
05/02/18	J146	Labour	-	-	-	-	-	-	-
20/03/18	J189	Prélèvement de sol	5.0	P8	X	X	X	X	X
24/04/18	J224	Prélèvement de sol	17.2	P9	X	X	-	-	-
08/05/18	J238	Semis maïs	-	-	-	-	-	-	-
16/05/18	J246	Binage	-	-	-	-	-	-	-
06/06/18	J267	Prélèvement de sol	19.8	P10	X	X	X	X	X

Tableau 2 : Calendrier des opérations culturales (en bleu) et des mesures réalisées (en noir)

NB : En bleu, le calendrier des opérations culturales ; En noir, les mesures réalisées ;

En gras, les dates où l'ensemble des mesures ont été réalisées ;

Temp. : température à 10 cm de profondeur la veille du prélèvement enregistrée à Thiverval-Grignon ;

X : mesures réalisées



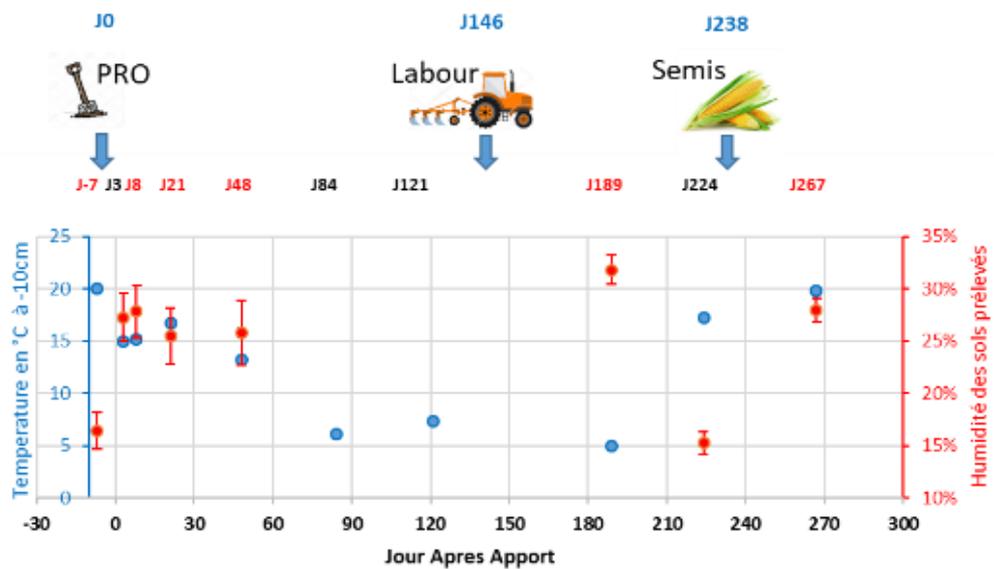


Figure 4 : Calendrier des opérations culturales et prélèvement des sols en jour après l'apport de PRO

NB : Les températures (points bleus), et l'humidité du sol (points rouges) aux moment des prélèvements sont indiquées ;
 Les dates où l'ensemble des mesures a été réalisé sont surlignées en rouge ;
 Le J0 correspond au 11 septembre 2017

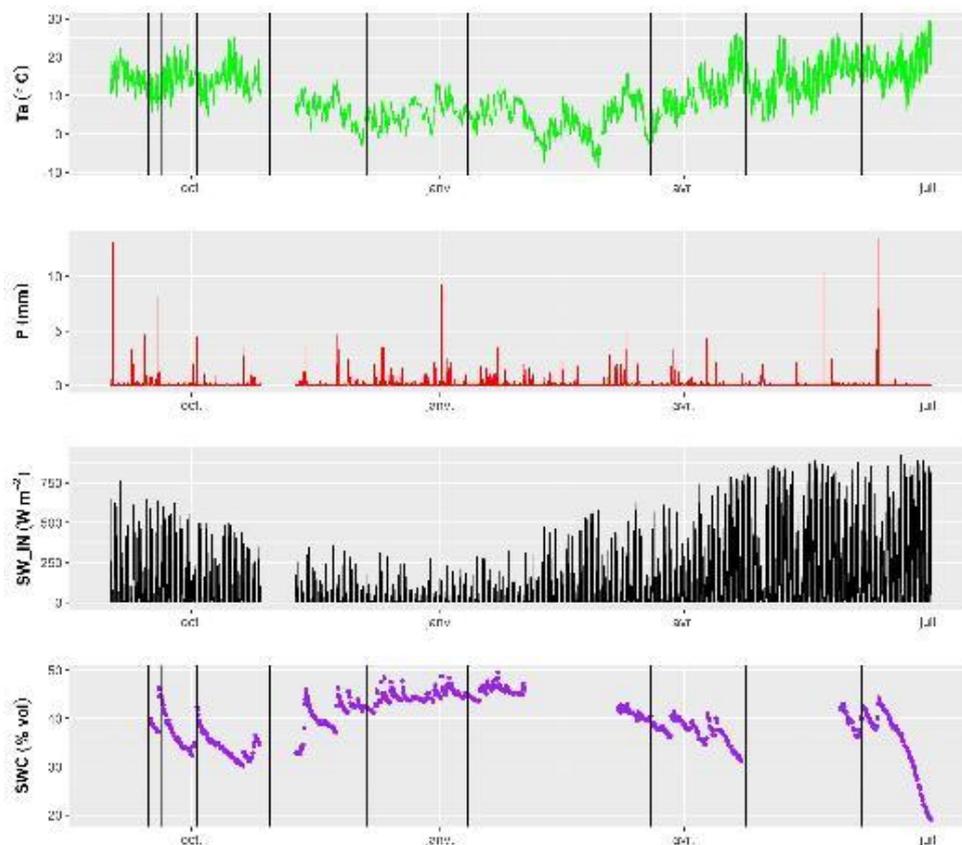


Figure 5 : Données météorologiques relevées sur le site expérimental de SOERE-PRO QualiAgro durant la période de prélèvements au champ du projet DICOV

NB : Ta : température de l'air ; P : précipitations ; SW_IN : rayonnement direct incident ; SWC : teneur en eau du sol à 10 cm de profondeur ;
 Les barres noires (graphiques de Ta et SWC) désignent les jours de prélèvements des sols.

2.2. Mesures relatives aux composés organiques volatils



La quantification des flux de COV émis par les sols a été réalisée par l'UMR ECOSYS. Les mesures relatives aux émissions de COV par les sols, que ce soit en microcosme (partie 1 du projet) ou sur le terrain (partie 2 du projet), ont été effectuées au moyen d'un PTR-Qi-TOF-MS (Ionicon (Innsbruck, Autriche)). Cet analyseur est un spectromètre de masse (MS) à temps de vol (TOF) avec une source d'ionisation par transfert de proton (PTR) et un quad (Qi) utilisé comme guide d'ions pour améliorer la focalisation du faisceau d'ions dans le TOF. Cette dernière option permet de gagner un facteur 10 à 20 en sensibilité par rapport aux PTR-TOF-MS de génération précédente (sensibilité > 1 000 coups par ppbv). Cet analyseur fonctionne en flux continu : l'air est échantillonné entre 0,1 et 1 L min⁻¹ et est analysé avec une fréquence allant jusqu'à 10 fois par secondes, permettant d'analyser rapidement de nombreux échantillons. Une des difficultés du PTR-MS réside dans l'identification des molécules : la masse moléculaire uniquement ne donne pas accès à la molécule et ce d'autant plus que la masse moléculaire augmente car le nombre de combinaison augmente avec. Le PTR-MS utilisé possède une très bonne résolution en masse qui facilite l'identification. En effet, le rapport entre la masse et la largeur du pic à mi-hauteur est d'environ 4 000, pour des masses molaires supérieures à 79 grammes. L'analyseur est opéré par l'UMR ECOSYS depuis mars 2015 dans le cadre du projet ANAEE-service.

2.2.1 Dispositif de mesure de COV - expérimentation première phase

Dans chaque parcelle, cinq carottes de sol ont été prélevées aléatoirement entre 0 et 30 cm de profondeur à l'aide d'une tarière et stockées dans une chambre froide à 4 °C avant d'être analysées. L'échantillonnage a été effectué au début du mois de septembre 2016, un an après le dernier apport de PROs. Les échantillons de sol ont été tamisés à 4 mm et homogénéisés avant la stérilisation aux rayons gamma et préparation des dilutions de diversités. Les sols ont été mis en flacons et incubés pour 6 semaines. Une semaine avant la mesure des émissions de COV avec le PTR-QiTOF-MS, les bouchons des flacons en silicone ont été remplacés par des bouchons recouverts de téflon. Cette mesure était nécessaire pour réduire l'influence des émissions de COV libérées par les bouchons en silicone. En effet, le téflon est un matériau inerte qui réduit les émissions de COV du bouchon en silicone.

Après les six semaines d'incubation, les microcosmes ont été connectés au PTR-QiTOF-MS afin de mesurer les émissions de COV.

Chaque bouchon de flacon était percé de deux tubes PEEK, l'un permettant la connexion avec le PTR-QiTOF-MS et l'autre relié à une bouteille d'air synthétique sec (Alphagaz 1 Air : 80 % d'azote, 20 % d'oxygène, 99,9999 %, Air Liquide). Les flacons avaient un volume de 88 cm³. La détection des émissions de COV des microcosmes a été effectuée pendant 180 s pour chaque échantillon.

Après l'analyse de chaque échantillon, un flacon vide équipé du même bouchon en téflon que l'échantillon a été utilisé comme référence. Un débit d'air (Q_{air}) de 0,3 L min⁻¹ (débit volumétrique normalisé à 0 °C et 1 atm) d'air synthétique sec a été passé à travers un filtre à hydrocarbures et à humidité (Filtre pour gaz combustible, pureté finale = 99,999 %, Restek) et un piège à hydrocarbures (Supelco, Supelpure HC) avant l'injection dans le flacon. Un débitmètre massique (Bronkhorst modèle F-201CV, précision : standard 0,5 % Rd plus 0,1 % FS, gamme : 0,2 L min⁻¹ à 5 L min⁻¹ d'air) a été utilisé pour contrôler le débit d'air synthétique. L'air a été échantillonné directement par le PTR-Qi-TOF-MS à la sortie de la chambre avec un débit de 0,05 L min⁻¹ à travers un tube PEEK de 2 m de long et de 1 mm de diamètre externe, chauffé à 80 °C.

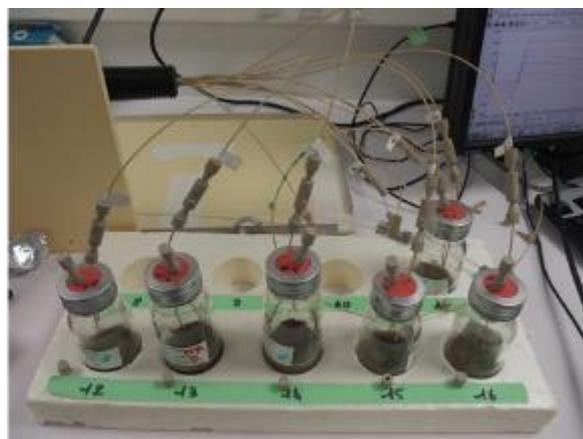


Figure 6 : Les dispositifs de mesure des COV utilisés lors de l'expérimentation de la première phase de l'étude DICOV (manipulation de diversité)



NB : À gauche, on voit le PTR-Qi-TOF-MS et à droite on distingue six flacons d'analyse équipés des tubes peek allant au PTRMS. (crédit photo : Letizia Abis)

2.2.2 Dispositif de mesure de COV - expérimentation deuxième phase

La mesure de COV a été réalisée en laboratoire sur sol structuré non remanié à l'aide d'une chambre dynamique (cellule de volatilisation d'ammoniac, dispositif développé par ECOSYS par Sophie Générmont, Figure 7). Cette chambre est un cylindre de dimensions ($\phi=15\text{ cm}$ * $h=7\text{ cm}$), a une surface de $0,018\text{ m}^2$. La base des cylindres de sol a été insérée dans un socle en téflon puis les cylindres ont été fermés de façon étanche par un couvercle en verre via une bague en téflon et un collier de serrage. Le couvercle en verre est muni de deux orifices et d'un déflecteur en téflon permettant le balayage d'un flux d'air laminaire et uniforme sur la totalité de la surface du sol. Le premier orifice correspond à l'entrée d'air zéro synthétique, c'est-à-dire exempt de COV (Air (80 % azote, 20 % oxygène, pureté 99,999 %, Alphagaz1, Air liquide, France) purifié et séché après passage au travers d'un filtre double hydrocarbure/humidité (pureté finale 99,9999 %, Filtre Super clean, Restek, France). Ce flux d'air était régulé à 1 L/min par un régulateur de débit massique (Bronkorst). L'air sortant du second orifice est ainsi enrichi en COV émis par les sols et est prélevé par le PTRMS pour la détection et la quantification des COV à une fréquence de un hertz. L'émission des COV a été suivie pendant quatre minutes en continu après la fermeture de la cellule. A chaque date de mesures, la concentration en sortie d'une cellule vide a été mesurée comme référence.



Figure 7 : Illustrations du dispositif de prélèvement et de mesures des COV de l'expérimentation de la 2^{ème} phase du projet

Crédit photo : Florence Lafouge, Pauline Buysse et Sophie Générmont.

2.2.3 Spécificités et réglages du PTR-Qi-TOF-MS

La configuration de l'analyseur est décrite en détail par Abis et al, (2018) et n'est que brièvement décrite dans ce rapport. Dans cette étude, l'ionisation a été réalisée avec H_3O^+ comme donneur de protons. Dans la chambre de réaction, la pression a été réglée à 4 mbar, la température à 80 °C et la tension dans la chambre de réaction à 1000 V. Le rapport E/N (champ électrique / densité des molécules) était de 132 Td, où 1 Td correspond à $10\text{-}17\text{ V cm}^2$. Le réglage du temps de vol était : Période d'extraction de la TOF 40000 ns, largeur d'impulsion 2000 ns, délai de déclenchement 100 ns. Le nombre de canaux était de 240.000. Cela a donné une mesure du spectre de masse jusqu'à 510 m/z. La période de mesure a été fixée à 1 s, ce qui signifie que chaque échantillon correspondait à 60 acquisitions de 25000 spectres individuels. Les données brutes PTR-ToF-MS ont été enregistrées par le logiciel TofDaq (Tofwerk AG, Suisse).

2.2.4 Analyse des pics et calibration du PTRMS

L'analyse des pics d'ions des spectres de masse, ainsi que l'étalonnage en masse ont été effectués à l'aide de l'analyseur de spectres du logiciel PTR viewer 3.1.0.29 (Ionicon, Analytik GmbH) selon le protocole publié dans Abis et al. (2018). Brièvement, l'étalonnage en masse a été faite sur les masses 21, 37 et 59. Les surfaces sous les pics d'ions ont d'abord été extrait par ajustement de courbes Gaussiennes. Tous les pics dont l'amplitude pour un échantillon donné était supérieure à trois fois l'amplitude pour l'air pur ont été conservés pour analyse ultérieure.

Afin de tenir compte de la perte normale de sensibilité du PTR-Qi-TOF-MS, un étalonnage régulier a été réalisé, avec du toluène comme composé de référence. Le rapport de mélange de ce composé a été modulé à l'aide d'un système de dilution à partir d'une bouteille d'étalonnage contenant 104 ppb de toluène (Btex, Messer®). Nous avons utilisé le même air synthétique pour le système de dilution que celui décrit pour la chambre. La sensibilité a été calculée comme la pente de la régression entre le rapport de mélange mesuré et le rapport de mélange théorique. La sensibilité a été considérée comme identique pour l'ensemble des COV.

2.2.5 Calcul des émissions par les microcosmes

Un cycle de mesure consistait à mesurer le rapport de mélange des COV à la sortie de la chambre de mesure (flacon ou cellule) contenant les microcosmes ($\chi_{COV\ sol}$ en ppb), et sur la chambre vide alternativement pour déterminer $\chi_{COV\ zero}$ (ppb). L'acquisition du signal sur chaque chambre durait entre 3 et 4 minutes. Seules les plages de concentrations stabilisées étaient conservées pour calculer les rapports de mélange moyens (~60 dernières secondes). L'émission de COV exprimé par masse de sol sec (E_{COV} en nmol g⁻¹ s⁻¹ de sol sec) a été calculée comme suit :

$$E_{COV} = \frac{Q_{air} \times (\chi_{COV\ sol} - \chi_{COV\ zero})}{V_{mol}^{air} \times m_{sol\ sec}}$$

Où V_{mol}^{air} est le volume molaire de l'air à température et pression standard (22,4 L mol⁻¹ à 0°C et 1 atm), et $m_{sol\ sec}$ la masse de sol sec de l'échantillon. Dans les expérimentations de la première phase les émissions sont données tandis que dans la seconde phase les différences de concentrations sont utilisées pour discuter les résultats ($\chi_{COV\ sol} - \chi_{COV\ zero}$). Cela n'a pas d'incidence sur les conclusions de ces deux études qui cherchent à comparer les modalités et les évolutions saisonnières avec des systèmes standardisés pour lesquels les autres paramètres du calcul du flux sont constants.

2.2.6 Identification des COV

Nous avons d'abord identifié la formule moléculaire avec l'analyseur de spectres dans le logiciel PTR viewer 3.1.0.29 (Ionicon, Analytik GmbH). L'analyseur de spectres est un outil qui permet de sélectionner manuellement les pics choisis pour l'identification. L'identification des composés correspondant à chaque pic de masse a été réalisée en recherchant les combinaisons possibles d'éléments qui correspondent à la masse moléculaire la plus proche. Les éléments suivants ont été sélectionnés pour tous les pics : C, N, O et H. D'autres composés ont été sélectionnés volontairement pour des masses supérieures à 70 m/z comme S, Si, Cl, Ca et K, lorsque C, N, O et H ne permettaient pas d'obtenir un bon accord avec la masse du pic. Le nombre maximum d'atomes par molécule a été fixé à 50, tandis que l'erreur sur la masse moléculaire a été fixée à ± 0,01 m/z. Par la suite, une liste de composés possibles a été établie. Les composés listés représentent les meilleures correspondances pour le m/z exact sélectionné. Enfin, une correspondance des isotopes de chaque composé a été évaluée. Une fois la formule moléculaire déterminée, nous avons essayé d'identifier les composés potentiels en se basant sur la littérature. Nous devons souligner que cette méthode ne permet pas une identification incontestable des composés car plusieurs composés pourraient avoir la même masse moléculaire mais pas la même structure chimique. De plus, même avec cette procédure, certains composés n'ont pas pu être identifiés.

2.3. Quantité et composition de la matière organique des sols

La caractérisation de la matière organique présente dans les sols a été réalisée par l'IEES. La matière organique du sol (MOS) est une composante clé des écosystèmes terrestres, et toutes variations de son abondance et de sa composition auront des conséquences importantes sur la plupart des processus biogéochimiques et physiques. Les teneurs en carbone et azote ont été déterminés après combustion avec un analyseur élémentaire. Pour caractériser la composition biogéochimique des MOS, nous avons utilisé deux méthodes complémentaires :

- La pyrolyse analytique couplée à la chromatographie gazeuse et à la spectrométrie de masse (pyrolyse/GC/MS) (Zegough *et al.*, 2004) ;
- La spectroscopie de moyen infrarouge.

Alors que la pyrolyse renseigne sur la composition moléculaire de des échantillons, la spectroscopie permet de déterminer certains groupements fonctionnels. Nous avons utilisé la caractérisation moléculaire après pyrolyse pour les échantillons utilisés dans l'expérience de l'incubation afin de tester, si la composition moléculaire des matières organiques des sols amendés avec des matières organiques résiduelles se distingue. La pyrolyse Curiepoint a été réalisée avec une unité de pyrolyse (GSG Curiepoint Pyrolyser 1040 PSC) couplée à un chromatographe en phase gazeuse (Hewlett Packard HP 5890) et



un spectromètre de masse (Hewlett Packard HP 5889; énergie électronique 70 eV). Environ 0,5 à 1 mg d'échantillon ont été chargés dans des fils ferromagnétiques tubulaires, chauffés par induction à leur température de Curie de 650 °C en 0,15 s dans l'unité de pyrolyse. Les produits de pyrolyse ont été transférés au système GC en utilisant un mode sans séparation avec He comme gaz porteur. Les produits de pyrolyse ont été séparés sur une colonne capillaire de silice fondue de 60 mètres avec une phase stationnaire de cire (SolGelWax, SGE, 0,32 mm d.i., épaisseur de film 0,5 µm). La température du four GC a été programmée de 30 °C à 280 °C à 2 °C / min. La température finale a été maintenue pendant 15 minutes. Cette méthode étant longue et compliquée, une réalisation pour tous les échantillons collectés sur le terrain n'était pas possible.

Pour cette raison, nous avons effectué des analyses spectroscopiques, afin de suivre les changements de composition chimique pendant une année après épandage des Pros. Les analyses ont été effectuées sur les mêmes échantillons que les mesures relatives à la communauté microbienne des sols. Les spectres infrarouges moyens de sol ont été collectés avec un spectrophotomètre à transformée de Fourier (FTIR 660 Agilent ex-Varian, Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, USA) constitué d'une source (Globar, American Resistor Company, Milwaukee, USA), un séparateur à base de bromure de potassium (KBr) et un détecteur au silicium. Les mesures de réflectance diffuse ont été effectuées à des intervalles de 2 cm⁻¹ sur 4 000-400 cm⁻¹ et converties en absorbance. Les spectres bruts ont été soumis à un prétraitement, y compris un lissage Savitzky-Golay (filtre polynomial de premier ordre avec une fenêtre de 13 points), une correction de la ligne de base (ajustement polynomial de degré 3) et une normalisation par la somme de l'absorbance sur 4000-400 cm⁻¹. Le prétraitement des données a été réalisé avec des packages « spectacles » et « signal » dans le logiciel statistique R. Afin de s'affranchir des biais analytiques liés à la présence de la phase minérale, il était nécessaire d'effectuer une déminéralisation des échantillons par traitement avec l'acide fluorhydrique. Le traitement HF a été réalisé selon Eusterhues et al. (2007). En bref, quatre grammes de sol ont été immergés dans 40 ml de HF à 10 % et agités cinq fois pendant deux heures. Après chaque traitement, la suspension de sol a été centrifugée avant élimination du surnageant. Le HF résiduel a été éliminé du matériau final par lavage avec de l'eau distillée (cinq fois). Après lyophilisation, la composition moléculaire du SOM a été analysée par pyrolyse GC / MS ou par spectroscopie de moyen infrarouge.

2.4. Mesures relatives à la communauté microbienne des sols

L'évaluation de la diversité des communautés microbienne des sols a été réalisée par l'UMR Agroécologie. Pour les expériences réalisées en microcosmes comme au champ, la stratégie retenue pour caractériser les communautés microbiennes (bactéries et champignons) des sols était basée sur l'utilisation d'outils moléculaires qui permettent de s'affranchir des biais liés à la culture des micro-organismes telluriques dont on estime que seulement 0,1 à 10 % sont cultivables sur des milieux synthétiques. Ainsi, la densité et la composition taxonomique des communautés microbiennes (bactéries et champignons) ont été analysées par des outils moléculaires basés sur la caractérisation de l'ADN extrait du sol. Dans ce contexte, l'ADN est extrait en utilisant une méthode qui a été développée au sein de laboratoire appartenant à l'UMR Agroécologie (Martin-Laurent *et al.* 2001, Ranjard *et al.*, 2003). L'abondance et la diversité des communautés microbiennes des sols sont caractérisées par des outils de métagénomique environnementale basés sur l'extraction et la caractérisation de l'ADN du sol. Plus précisément, la biomasse moléculaire microbienne (abondance) est évaluée par une estimation de la quantité d'ADN extraite. La densité des communautés de bactéries et de champignons est évaluée en quantifiant respectivement le nombre de copies des gènes ribosomiques 16S et 18S dans les sols par la méthode de PCR en temps réel (López-Gutiérrez *et al.*, 2004). Enfin, la diversité taxonomique des bactéries et en champignons a été caractérisée par un séquençage massif (illumina) des gènes ribosomiques (16S pour les bactéries et 18S pour les champignons).

2.5. Analyses statistiques

Pour évaluer la diversité des COV émis par les sols ou de la communauté microbienne, l'indice de Shannon, mesure entropique, a été calculé. Il prend en compte le nombre de composés émis ou d'espèces microbiennes (richesse spécifique) et la répartition de chaque individu au sein de ces espèces (équité spécifique). Cet indice donne une idée de la diversité spécifique d'un milieu.

Les données relatives à la diversité, ainsi que les différents spectres obtenus suite aux mesures de MOS ou de COV ont été analysés via des analyses de variance (ANOVA) et des analyses multivariées (Analyse en Composante Principale (ACP)). Cela a permis d'évaluer l'effet des PRO ou du temps (mesure cinétique sur le terrain) pour chaque paramètre obtenus (Diversité, MOS ou COV). Des ANOVA et des ACP ont également été faites avec les données relatives aux paramètres physico-chimique du sol.

Pour les ACP réalisée sur les données relatives à la diversité microbienne, pour chaque modalité d'apport (ex : BIO), la distance Euclidienne (Eudist) a été calculée entre les différentes dates de prélèvements (J8, J21, J48, J189 ou J267) et J-7 (considéré



ici comme le point de référence contrôle). Cette distance génétique est interprétée comme étant l'amplitude de réponse de la structure de la communauté microbienne à un stress donnée (ici l'apport de PRO à J0).

Cette amplitude est calculée comme suit (pour chaque temps de cinétique) :

Amplitude de réponse à J8 = [Moyenne des Inter Eudist (microcosmes à J8 / microcosmes à J-7)] - [((Moyenne des Intra Eudist (microcosmes à J8) + (Moyenne des Intra Eudist (Microcosmes à J-7)))/2] (Bressan et al., 2008).

Pour mettre en évidence l'importance de la diversité microbienne et/ou de la composition biochimique de la MOS dans l'émission des COV d'un point de vue quantitatif et qualitatif, nous avons procédé à une analyse statistique permettant d'évaluer la part de variance explicative de différents paramètres (Partition de variance). Nous avons ainsi testé si la température, la diversité microbienne, la physico-chimie des sols ou encore la composition de la matière organique présente dans les sols pouvait expliquer cette variation de diversité de COV émis. Cette analyse a été réalisée pour toutes modalités d'apport confondues.



3. Bilan / Principaux résultats

3.1. Effet de la diversité des communautés microbiennes du sol sur les émissions de COV

Cette section présente une synthèse des résultats de la première série d'expérimentation réalisée au laboratoire. Ces résultats ont fait l'objet de deux articles, dont l'un publié qui porte sur l'effet du niveau de diversité sur les émissions de COV (Abis et al., 2020), et l'autre qui porte sur les émissions de ces mêmes sols suite à un apport frais de PRO (Abis et al., 2018). Ces travaux ont été menés par Letizia Abis lors de sa thèse de doctorat (Abis, 2019).

3.1.1 Analyse physico-chimique des sols prélevés et composition moléculaire des MOS

Les sols prélevés sur le site QualiAgro présentaient, avant stérilisation, une composition physico-chimique variable avec en particulier un contenu en matière organique supérieur dans les quatre sols fertilisés par des PRO que dans le contrôle, et le plus élevé dans le BIO et GWS. Ceci reflète l'augmentation de la matière organique sous l'effet des apports récurrents de PRO caractérisés par des MO plus ou moins stables, expliquant des augmentations plus ou moins importantes des teneurs en MO des sols. Ces apports ont également conduit à augmenter la teneur en azote totale du sol. Un autre élément qui ressort est le pH qui est en général plus élevé dans les sols amendés (d'environ 0,5 point) sauf pour le GWS dont le pH (~pH 7) est similaire au contrôle (~pH 6.8) (Figure 88). Enfin, les apports de composts GWS conduisent à une très forte augmentation des teneurs en phosphore dans les sols.

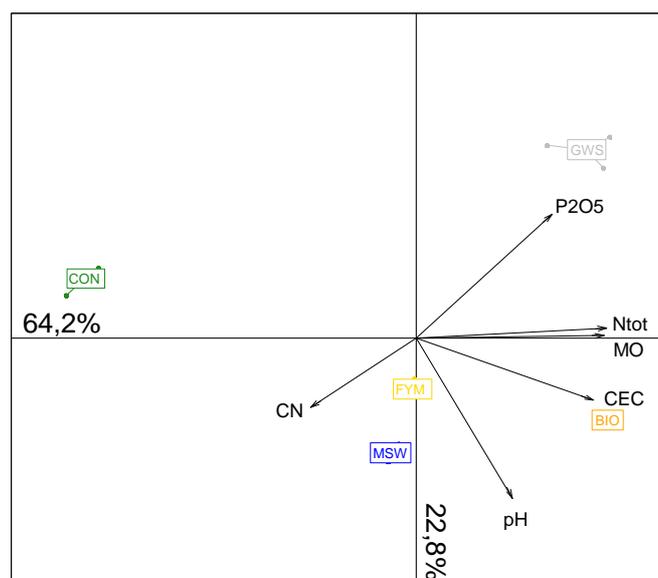


Figure 8 : Analyse en composante principale de la physico-chimie des sols prélevés sur le site QualiAgro

NB : FYM : fumier bovin, MSW : compost d'ordures ménagères, BIO : compost de biodéchets, GWS : compost de boue d'épuration et CON : contrôle sans PRO. CN : rapport C/N, CEC : capacité d'échange cationique, Ntot : concentration en azote total, MO : concentration en matière organique, P2O5, concentration en phosphore extractible Olsen

Nous avons caractérisé la diversité moléculaire des MOS dans les échantillons par pyrolyse analytique après stérilisation, car des analyses test ont indiqué des changements de la composition chimique. Dans les pyrograms nous avons pu identifier 82 pics. Les quatre sols amendés montrent des compositions moléculaires différentes du contrôle (Figure 9). La composition moléculaire des trois sols ayant reçu des composts se distinguent nettement des sols amendés avec le fumier (Figure 9). En outre, les MOS dans le sol amendé par les BIO montre une composition moléculaire différente de celle dans le sol amendé par les GWS. La distribution des résultats dans le plan ACP ne montre pas le même schéma, que les propriétés physico-chimiques, indiquant, qu'il y a possiblement des facteurs propres aux MOS, qui peuvent influencer le comportement microbien dans ces sols.

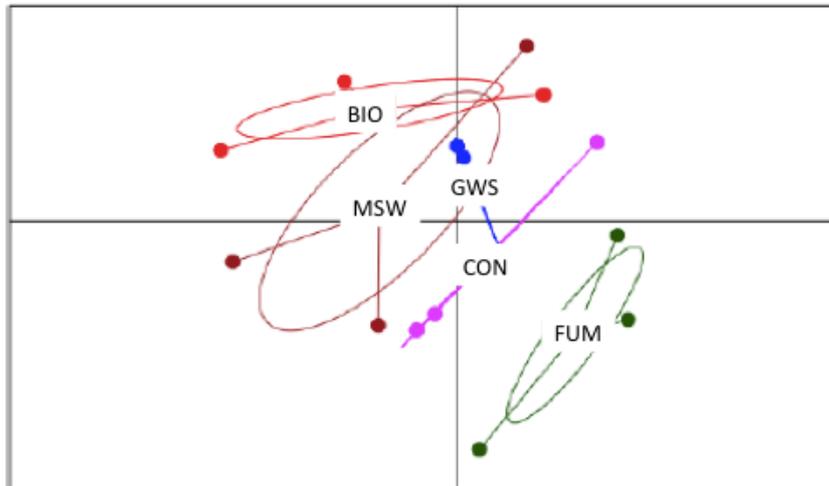


Figure 9 : Analyse en composante principale de la physico-chimie des sols prélevés sur le site QualiAgro

NB : FYM : fumier bovin, MSW : compost d'ordures ménagères, BIO : compost de biodéchets, GWS : compost de boue d'épuration et CON : contrôle sans PRO

Les 30 signaux les plus important pour expliquer la variabilité selon l'axe 1 sont présentés dans la Figure 10.

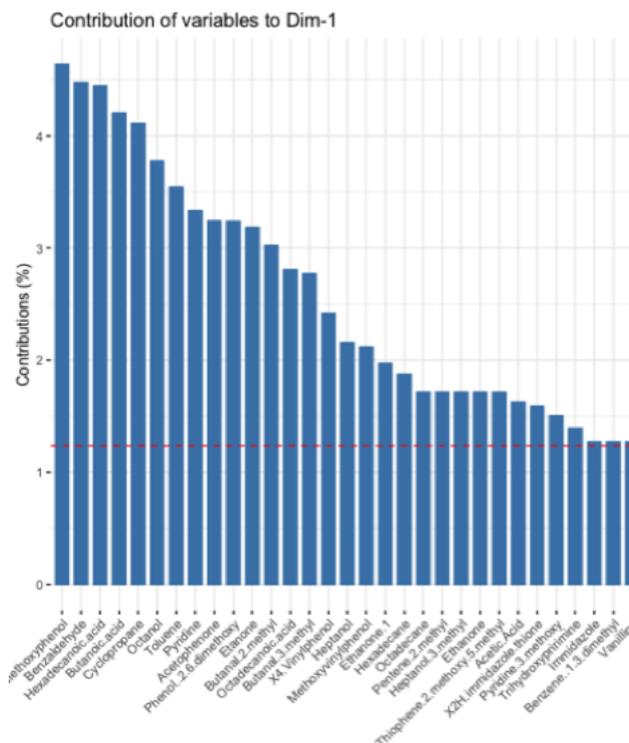


Figure 10 : Contribution des molécules expliquant la variabilité des échantillons selon l'axe 1 (Figure 9)

Il s'avère, que la distinction des échantillons est déterminée par les peaks provenant des composés originaires des lignines (methoxyphénol, 2,6, dimethoxiphénol), des polysaccharides (cyclopentane), des protéines (pyridine) et des acides aliphatiques (hexadécanoic acid, octadécanoic acid). Ce sont des composés typiques des MOS et montrent, qu'il n'y a pas d'accumulation des molécules spécifiques provenant des Pros industriels. Les résultats pourront s'expliquer avec un fonctionnement microbien différent suivant des amendements type PRO, menant ainsi à une nature différente des MOS résultant de ces processus. Il est probable, la transformation microbienne des apports est plus ou moins complète suivant le traitement. En conséquence les MOS des différents traitements montrent une contribution variée des composés provenant des litières végétales et microbiens. Il est à noter, que malgré un pH et une signature des MOS similaires dans les traitements Témoin et GWS, leur teneur en carbone est très contrastée.

3.1.2 Analyse de la communauté microbienne

Après stérilisation des sols prélevés au rayon gamma, inoculation de ces sols avec une suspension de dilution de sol (D0, D1 ou D2) et une incubation de 28 jours, la biomasse moléculaire microbienne comprise dans les différents échantillons était similaire, excepté dans le fumier de bovin dont la dilution la plus élevée présentait une biomasse microbienne plus élevée (Tableau 3). Cette homogénéité de la biomasse microbienne est un préalable à l'analyse des résultats de cette expérimentation car elle garantit un comportement similaire.

Modalité d'apport	Niveau de dilution	Biomasse ($\mu\text{g DNA g sol}^{-1} \pm \text{sd}$)	P value
CON	D0	13.52 \pm 2.41	a
	D1	12.48 \pm 2.09	a
	D2	12.69 \pm 2.30	a
BIO	D0	11.24 \pm 1.07	a
	D1	15.83 \pm 1.33	a
	D2	17.38 \pm 2.77	a
FYM	D0	16.25 \pm 4.35	a
	D1	21.22 \pm 2.20	ab
	D2	28.52 \pm 3.48	b
GWS	D0	18.30 \pm 1.18	a
	D1	20.26 \pm 4.78	a
	D2	21.99 \pm 3.77	a
MSW	D0	22.31 \pm 2.12	a
	D1	21.52 \pm 1.19	a
	D2	23.97 \pm 1.39	a

Tableau 3 : Effet de la manipulation de dilution de diversité sur la biomasse moléculaire microbienne des sols provenant des microcosmes

En revanche, pour une même biomasse moléculaire, et ce quel que soit la modalité d'apport de PRO, la réalisation de la manipulation de dilution de diversité a permis d'obtenir des microcosmes contenant des niveaux significativement différents de diversité microbienne (fort (D0) / intermédiaire (D1) / faible (D2), ce qui était l'effet recherché. Cela est bien illustré par la **Figure 11**.

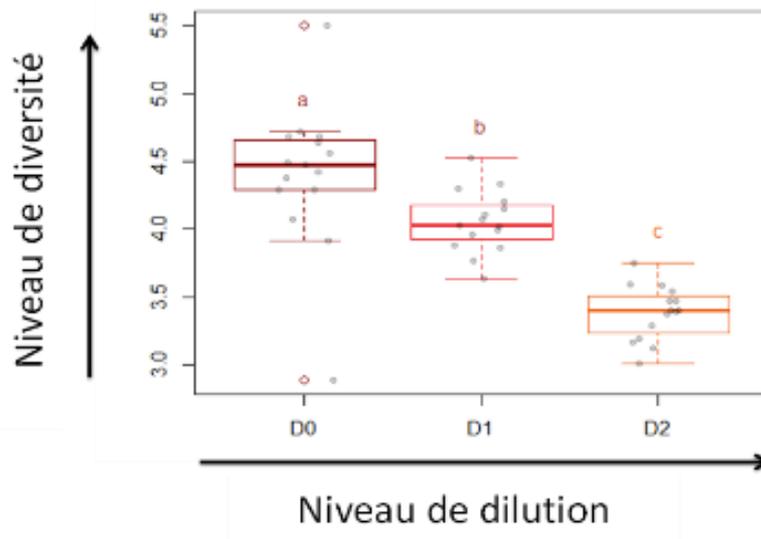


Figure 11 : Effet de la manipulation de dilution de diversité sur la diversité microbienne des sols provenant des microcosmes

NB : LE niveau de diversité est exprimé par l'indice de Shannon. Un test de Tukey a été réalisé pour déterminer la significativité des différences entre niveaux de diversité (lettres a, b, c)

La manipulation de dilution de diversité a induit une modification de la composition de la communauté microbienne.

Ainsi, l'abondance des *Proteobacteria* et des *Bacteroidetes* augmentaient pour des niveaux de diversité faibles (D2 ; Figure 7), tandis que celle des *Firmicutes*, *Crenarchaeota*, *Actinobacteria*, *Thaumarchaeota*, *Planctomycetes*, *Gemmatimonadetes* et *Acidobacteria* diminuait (D2 ; Figure 12).

Pour les champignons, les *Ascomycota* et les *Blastoclamidomycota* augmentaient pour des niveaux de diversité faibles (D2 ; Figure 12), tandis que celle des *Basidiomycota*, *Chytridiomycota*, *Glomeromycota* et *Neoclimastigomycota* diminuait (D2 ; Figure 12).

Il ressort que les communautés bactériennes les plus abondantes dans le sol initial ont vu leur prépondérance renforcée au détriment des communautés les moins abondantes par la dilution de diversité. Le résultat est moins marqué voire inverse pour les champignons. Cette variation de composition se reflète dans la structure des communautés bactérienne et fongique différente en fonction du niveau de diversité comme visualisé par une analyse en composante principale (Figure 12).

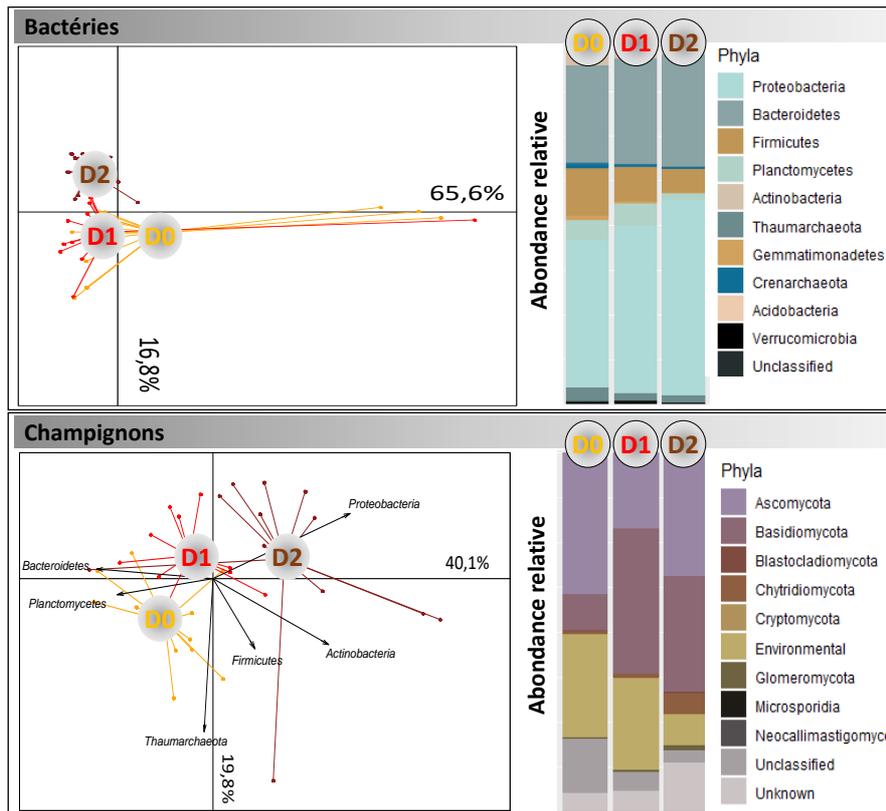


Figure 12 : Effet de la manipulation de dilution de diversité sur la composition microbienne (bactéries et champignons) des sols provenant des microcosmes

NB : Les graphiques de gauche montrent les analyses en composantes principales et ceux de droite les abondances relatives. En haut les bactéries et en bas les champignons

3.1.3 Émissions de composés organiques volatils (COV)

Nous avons détecté 754 pics d'ions, allant de m/z 15 à m/z 510. Le niveau de diversité microbienne le plus bas a montré un flux de COV cumulé entre 0,5 et 3 fois plus élevé que le flux aux niveaux de diversité microbienne les plus élevés. Ceci était vrai pour tous les sols considérés. Cela signifie que, dans notre expérience, l'effet de la dilution microbienne dans les émissions de COV des sols a dépassé l'effet de l'amendement des PRO. Cela montre que plus la diversité microbienne présente dans les sols est faible, plus la quantité de COV émise est importante (Figure 13 **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). D'autre part, il apparaît que la diversité des COV émis diminue avec le niveau de diversité microbienne présent dans les sols (Figure 133). Ceci suggère qu'une perte de diversité microbienne au niveau des sols induit une perte de fonction au niveau de la communauté, conduisant à des profils d'émission moins complexes.

Plusieurs composés de COV expliquent les différences de profils de COV entre les dilutions microbiennes. Une identification des composés expliquant la variance de la Figure 12 montre que les composés les plus émis étaient m/z 121,097 (identifiés comme Propylbenzène, isopropylbenzène ou 1,3,5-triméthylbenzène, Phénylacétaldéhyde), m/z 135,113 (*p*-cymène) et m/z 73,062 (Butanone, MEK). Ensemble, ces composés représentaient 70 % du taux d'émission total des COV. L'acétaldéhyde, le butanone et l'acétone ont été émis entre 10 et 20 fois plus dans les échantillons ayant la plus forte dilution (D2) que dans ceux ayant la plus faible dilution (D0).

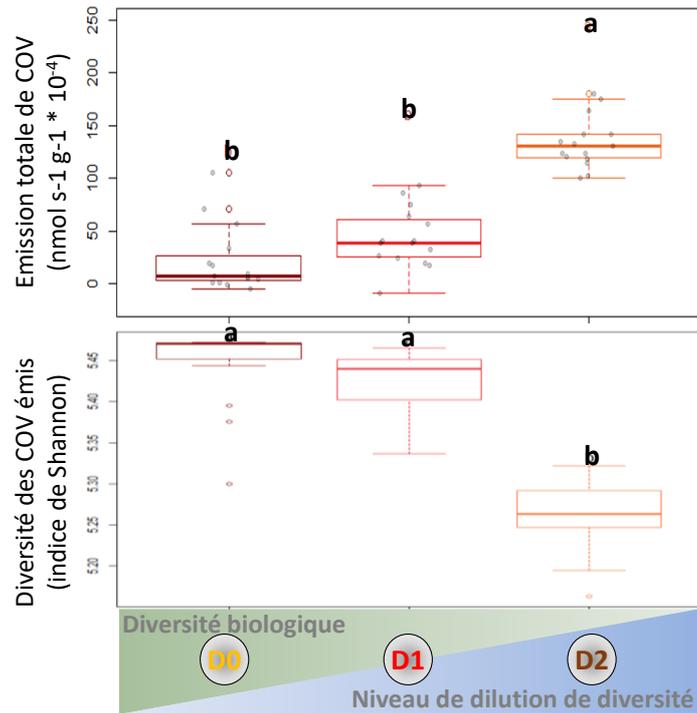


Figure 13 : Effet de la manipulation de dilution de diversité microbienne des sols sur la quantité et la diversité des COV émis par les sols

La corrélation entre la somme des émissions de COV du sol et la diversité, la richesse et le rapport F/P des procaryotes a montré une corrélation négative significative avec un coefficient de Spearman toujours inférieur à -0,71. Des corrélations non significatives ont été constatées pour toutes les autres combinaisons (diversité des COV et richesse fongique, diversité fongique et émissions cumulées de COV, et richesse fongique et diversité fongique). La partition de la variance a montré que la richesse procaryote et fongique expliquait 33,35 % de la variabilité des taux d'émission de COV additionnés (R^2 ajusté ; $P < 0,01$).

Une analyse des corrélations entre COV émis et l'abondance relative des bactéries a montré que l'abondance de certains phyla procaryotes tels que les Proteobacteria et les Bacteroidetes ainsi que la plupart des phyla fongiques ciblés étaient corrélés positivement aux émissions de COV. À l'inverse, d'autres phyla procaryotes comme les Planctomycetes, les Acidobacteria, étaient, eux, négativement ou peu corrélés aux émissions de COV. Nos résultats suggèrent donc que certains phyla microbiens (Proteobacteria, Bacteroidetes et la plupart des phyla fongiques) sont des producteurs de COV tandis que d'autres sont des consommateurs.

3.1.4 Conclusions

Cette étude montre que la réduction de la diversité microbienne dans le sol augmente les émissions de COV et diminue le nombre de COV émis. Ces travaux suggèrent aussi fortement qu'il y a plus de bactéries qui absorbent les COV que celles qui en émettent dans le sol. Plusieurs processus microbiens impliqués dans la production de COV au sein des microcosmes pourraient expliquer ce phénomène, soulignant la possibilité de voies de production par métabolisme primaire et secondaire. En outre, notre étude suggère que les phyla de Protéobactéries et de Bacteroidetes seraient une source de COV dans les sols alors que d'autres phyla pourraient être principalement des puits. Nos résultats suggèrent en outre que les interactions positives et négatives entre les micro-organismes, par l'intermédiaire des COVs, pourraient constituer un processus important de colonisation des sols.

3.2. Mesures au champ des évolutions conjointes de COV, diversité et propriétés des sols

La deuxième partie du projet DICOV avait pour objectif de se rapprocher des conditions naturelles par des mesures sur des sols non remaniés analysés en laboratoire. Il s'agissait d'évaluer l'effet de différents facteurs (microclimat, labour, apport de produit résiduaire organiques,...) sur les évolutions conjointes des émissions de COV, de la structure des populations microbiennes, de la matière organique et des propriétés physiques et chimiques des sols.

3.2.1 Analyse physico-chimique des sols prélevés

Les résultats obtenus montrent que pour l'ensemble des parcelles du site QualiAgro prélevées, les paramètres physico-chimiques du sol évoluent au cours du temps essentiellement pour les parcelles amendées (Tableau 4 : Cinétique d'évolution des paramètres physico-chimique du sol dans les différentes parcelles du site QualiAgro). Globalement, pour les parcelles témoin (CON) les variations sont très faibles. Pour les parcelles amendées, on note des augmentations en MO, C et N correspondant aux apports de PRO puis rediminuent à partir du jour 189. Les augmentations sont maximales à des jours différents dans les différents traitements organiques (8 jours pour BIO, 48 jours pour les autres PRO). Ces différences pourraient être dues à des hétérogénéités dans les enfouissements des PRO par le déchaumage. En revanche les diminutions au jour 189 sont liées au labour qui a été réalisé au jour 145 et a enfoui en fond de labour la couche amendée en PRO.

Modalités d'apport	Jour	Corg (g/kg)	N (g/kg)	MO (g/kg)	C/N	pH (eau)	P2O5 Olsen (g/kg)	CEC (cmol+/kg)
BIO	j-7	17,50b	1,75bc	30,30b	10,01a	7,65b	0,12c	11,83b
	j8	22,77a	2,24a	39,33a	10,13a	8,06a	0,17ab	13,53a
	j21	20,37ab	2,06ab	35,17ab	9,85a	7,94a	0,15bc	12,67ab
	j48	22,10a	2,20a	38,27a	10,03a	8,02a	0,18a	13,37a
	j189	16,10b	1,66c	27,87b	9,72a	7,76b	0,12c	12,37ab
	j267	16,60b	1,67c	28,67b	9,94a	7,66b	0,13c	11,67b
GWS	j-7	17,30a	1,69ab	29,90a	10,23ab	6,88a	0,21b	10,43b
	j8	22,97a	2,12ab	39,73a	10,70a	6,84a	0,26ab	11,33ab
	j21	19,63a	1,94ab	33,93a	10,09ab	6,73a	0,25ab	11,47ab
	j48	23,47a	2,26a	40,63a	10,40ab	6,78a	0,29a	11,97a
	j189	16,30a	1,59b	28,27a	10,23ab	6,80a	0,23ab	10,73b
	j267	16,33a	1,65ab	28,27a	9,90b	6,93a	0,24ab	11,00ab
FYM	j-7	15,10b	1,41b	26,13b	10,73ab	7,25b	0,14b	10,07b
	j8	16,37b	1,52b	28,30b	10,80ab	7,57ab	0,17b	10,60b
	j21	18,30ab	1,63ab	31,67ab	11,17a	7,62ab	0,20b	10,73b
	j48	24,73a	2,17a	42,73a	11,40a	8,09a	0,33a	12,90a
	j189	15,27b	1,43b	26,37b	10,67ab	7,32b	0,16b	10,93b
	j267	13,23b	1,33b	22,90b	10,00b	7,46b	0,15b	9,79b
MSW	j-7	14,40b	1,35cd	24,93b	10,70c	7,64c	0,08b	10,37c
	j8	21,93a	1,72ab	37,93a	12,67a	8,08ab	0,09b	11,27bc
	j21	16,63b	1,51bc	28,77b	10,97bc	7,94b	0,09b	10,93bc
	j48	22,00a	1,87a	38,03a	11,77ab	8,16a	0,12a	12,07a
	j189	13,33b	1,27d	23,13b	10,53c	7,66c	0,08b	10,97bc
	j267	13,10b	1,27d	22,67b	10,30c	7,62c	0,08b	10,97bc
CON	j-7	10,33bc	1,02b	17,83bc	10,13b	6,72ab	0,06b	8,23bc
	j8	11,47a	1,09a	19,83a	10,50a	6,90a	0,07a	8,54ab
	j21	10,30bc	1,01b	17,83bc	10,17b	6,75ab	0,06b	8,07cd
	j48	10,70ab	1,05ab	18,53ab	10,23ab	6,82a	0,07ab	8,37abc
	j189	10,00bc	0,99bc	17,27bc	10,10b	6,73ab	0,07a	8,79a
	j267	9,46c	0,94c	16,40c	10,13b	6,62b	0,07ab	7,64d

Tableau 4 : Cinétique d'évolution des paramètres physico-chimique du sol dans les différentes parcelles du site QualiAgro

3.2.2 Analyse de la communauté microbienne

Les résultats obtenus montrent que la biomasse moléculaire microbienne était, sur l'ensemble de la période de mesure, plus faible dans la parcelle n'ayant pas reçu d'amendement organique (CON) (

Figure 14a). Pour les parcelles amendées avec du fumier (FYM) ou du compost d'ordures ménagères résiduelles (MSW) une augmentation significative de la biomasse est observée 48 jours après l'apport (Figure 14a). La qualité de la matière organique présente dans ces deux PRO était probablement plus labile que dans les autres apports, expliquant cette augmentation significative de la biomasse microbienne dans ces sols.

Les résultats obtenus montrent que pour l'ensemble des parcelles étudiées, la structure de la communauté bactérienne évolue dans le temps (Figure 14b). Cette évolution est dépendante de la parcelle et de son historique propre. La parcelle amendée avec du fumier (FYM) présentait la plus grande variation de structure (48 jours après apport). À la fin de la cinétique (267 jours), et ce pour l'ensemble des parcelles (amendées et témoin), la structure de la communauté bactérienne tendait à revenir à son état initial (-7 jours).

Les résultats obtenus montrent que pour l'ensemble des parcelles étudiées, la structure de la communauté fongique évolue dans le temps (Figure 14c). Comme pour la communauté bactérienne, cette évolution est dépendante de la parcelle et de son historique propre. À l'exception de la communauté fongique de la parcelle amendée en compost de biodéchets (BIO), à la fin de la cinétique (267 jours), la structure de la communauté fongique ne tendait pas à revenir à son état initial (-7 jours).

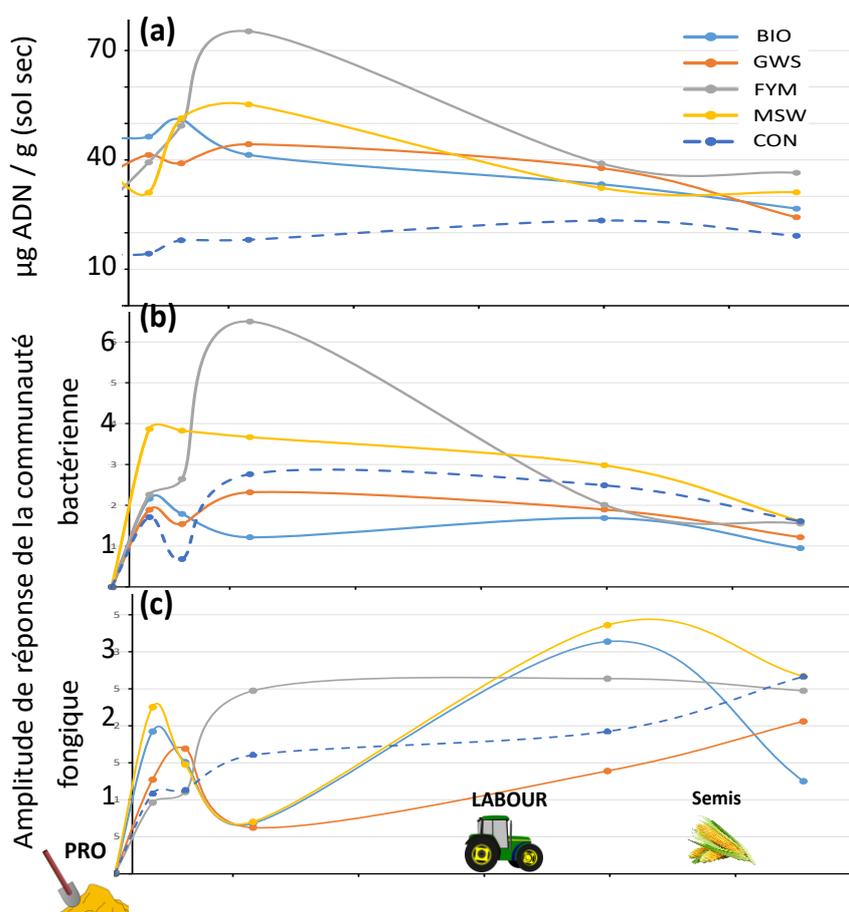


Figure 14 : Cinétique d'évolution de la biomasse moléculaire microbienne (a), et de la structure de la communauté bactérienne (b) et fongique (c) dans les différentes parcelles du site QualiAgro

3.2.3 Quantités totales des COV émis

Dans cette section les émissions de COV sont analysés. Les graphiques représentent la différence de concentrations entre l'entrée et la sortie des cellules.

Une première analyse sur l'ensemble du jeu de données montre que les émissions totales de COV du compost de boues d'épuration (GSW) sont significativement différentes du reste des modalités (Figure 15). Le compost d'ordure ménagère montre également des émissions totales de COV significativement différentes du contrôle et de GSW. La dynamique temporelle confirme ce résultat. Le sol témoin (CON) est celui qui émet le moins de COV. L'analyse plus détaillée de la dynamique montre une augmentation des émissions totales sur toutes les modalités trois jours après l'apport. L'évolution ultérieure diffère selon les amendements. Trois comportements se distinguent pendant les 50 premiers jours : (1) les émissions des sols GWS augmentent puis atteignent un plateau ; (2) les émissions des sols FYM chutent au niveau initial à J8 pour ré-augmenter à J21 avant de diminuer à J48 ; et (3) Le même motif est observé pour les sols Bio, MSW et le témoin CON mais avec un retard de 13 à 25 jours. Plus tard dans la saison, entre J48 et J121, l'ensemble des émissions chutent, et pour certaines modalités, en deçà des émissions avant l'apport de PRO (FYM, BIO, CON). A J189 (43 jours après le labour), une augmentation d'émission est observée sur chaque modalité, mais est plus forte sur la modalité MSW qui atteint le même niveau d'émission que GWS. Neuf mois après l'apport et un mois après le semis de maïs (J267), les émissions sont du même ordre de grandeur qu'avant l'apport.

Ces évolutions temporelles d'émissions totales de COV peuvent avoir pour origine des processus biotiques (activité et évolution des communautés microbiennes), qui peuvent être induits par des apports de substrat (PRO, rhizodéposition, dépôts atmosphériques) mais aussi des causes physiques (labour, turbulence atmosphérique, pluies, sécheresse) qui vont modifier les processus de transfert et d'équilibres entre le sol et l'atmosphère. Parmi ces causes multiples, la température et l'eau dans le sol jouent à la fois sur les processus de transfert et d'équilibres et sur les processus biologiques. Une analyse plus poussée de ces données est nécessaire pour comprendre les évolutions observées.

3.2.4 Diversité des COV émis et composés les plus émis

Concernant la diversité des composés émis, les résultats obtenus montrent, globalement pour l'ensemble des sols amendés et le témoin, une augmentation de l'indice de Shannon au cours du cycle, avec une diminution à J121 et J189 et une très forte hausse entre J189 et J225 (Figure 15).

Pour la majorité des dates de prélèvements, les indices de diversité ne diffèrent pas entre les modalités. Le sol BIO et le sol CON se distinguent par une diversité extrêmement faible (à J-7 à 8 et à J8, respectivement). Le sol OMR présente aussi une diversité plus faible à J189.

Parmi l'ensemble des COV émis, 571 ions ont été détectés entre les masses molaires 30 à 504. En sélectionnant uniquement les 20 composés les plus émis de chaque type de sols à chaque date de prélèvement, nous avons obtenu 76 composés distincts.

Parmi les composés les plus émis, on retrouve l'éthanol (m47.01) et C4H8 (m57.07, butène ou fragment du butanol) dans tous les cinq types de sols et toutes les dates. L'acide acétique (m61.028) est retrouvé dans 49 cas sur 50. L'acétaldéhyde (m45.034), C6H4O (m93.035), C2H2O (m43.018), l'isoprène (m69.069), l'acétone (m59.049) sont présents dans plus de 82 % des cas.

Parmi les composés majoritairement émis, on relève également beaucoup de composés oxygénés, comme C2H2O (m43.018, fragment connu principalement de l'acide acétique, mais également de l'acide formique, l'acétone...), mais aussi l'acide acétique (m61.028), l'acétone (m59.049), l'acétaldéhyde (m45.034) et l'éthanol (m47.013).

La Figure 16 détaille par type d'amendement la dynamique d'émission des 11 composés majoritaires émis lors du cycle cultural.

En grande majorité, les principaux composés émis sont identiques dans chaque type de sols avec des proportions variables selon la date de prélèvement. Certains composés présentent une variabilité temporelle élevée, notamment le formaldéhyde et l'acétone dans tous les types de sols et le méthanol dans les sols GWS et BIO.

On remarque que lorsque l'indice de diversité est élevé, ce qui correspond aux deux dernières dates de prélèvement, les composés majoritaires ont une contribution minoritaire aux émissions totales de COV. Cela est très clair dans le cas du sol BIO pour lequel les 11 composés ne contribuent qu'à hauteur de 22 % des émissions totales à J224 alors qu'ils contribuent à plus de 80 % des émissions totales à J8 (Figure 16).

Cette évolution pourrait être liée à la reprise de l'activité biologique du sol au printemps. En effet le prélèvement à J224 arrive juste à après une période de hausse des températures au-dessus de 20 °C.

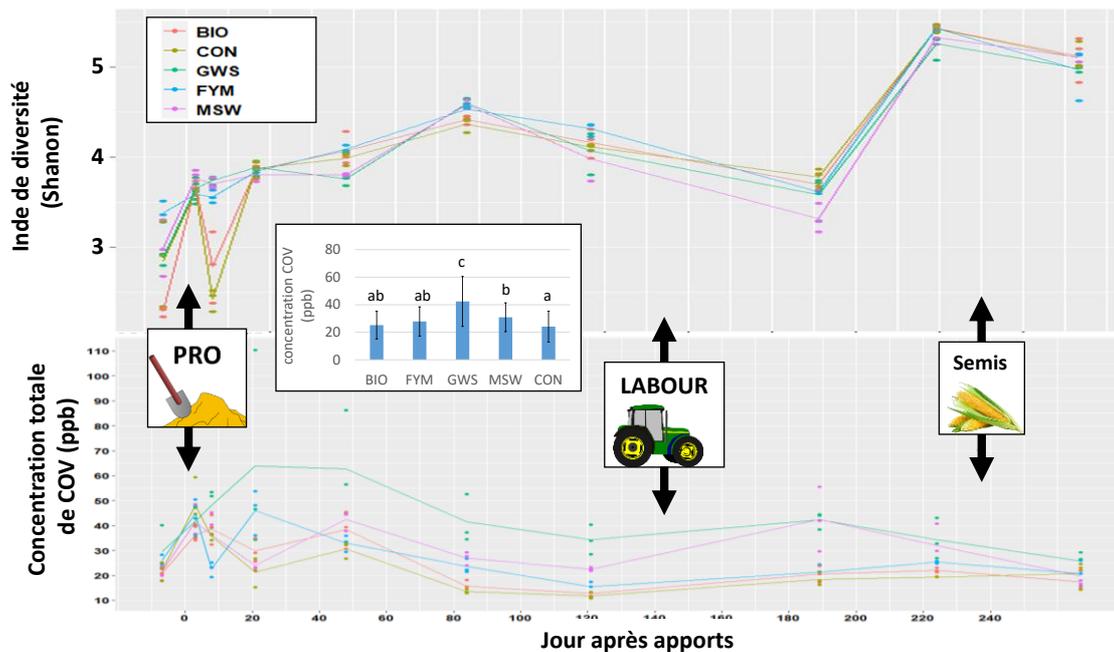


Figure 15 : Indice de diversité et concentration totale en COV au cours de la saison

NB : Les points correspondent à chaque réplica ; Les lignes montrent la moyenne de chaque modalité ; L'encart montre les moyennes et écarts-types des concentrations par type d'amendements ; Les lettres indiquent les différences significatives estimées par Anova

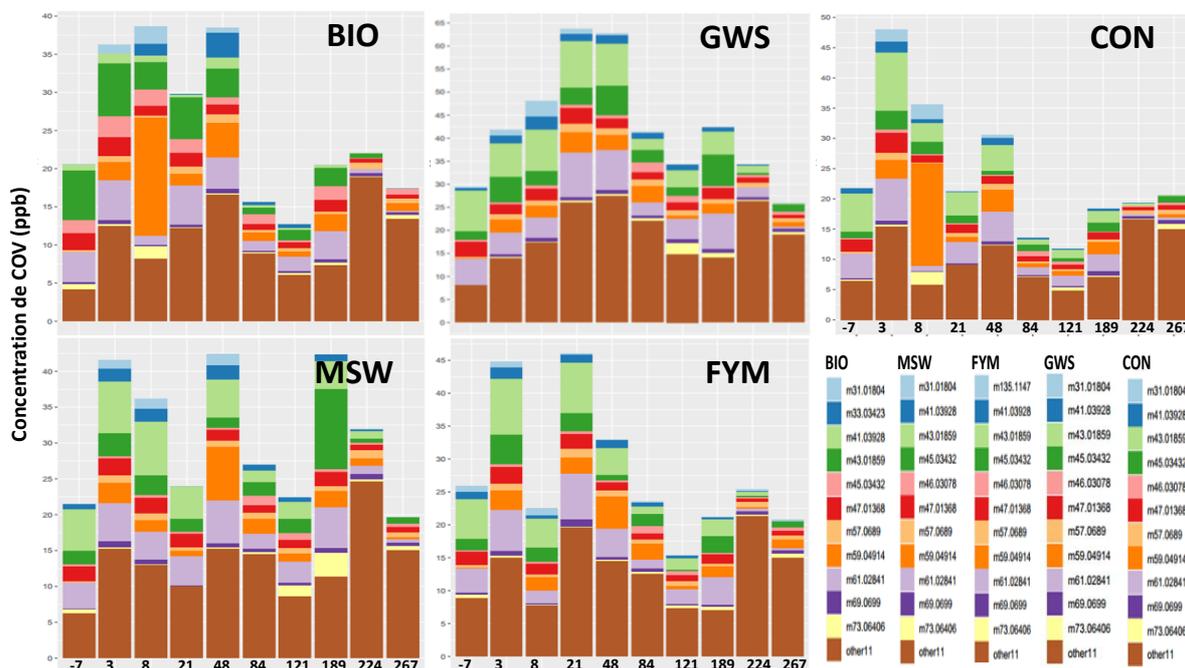


Figure 16 : Composition des émissions de COV par produits résiduels organiques (PRO) et date de prélèvement

NB : Les 11 composés les plus abondants sont détaillés, les suivants sont dans la catégories "other11"

Une analyse multivariée a été réalisée pour identifier de possibles groupes de comportement. Une analyse en composantes principales (Modalités, Figure 17) indique que les cinq types de sols peuvent se regrouper en trois groupes selon leur profil d'émissions de COV : GWS différent des quatre autres sols, et FYM et MSW se distinguant de CON et BIO. Tous les types d'amendement génèrent des émissions de COV différentes du témoin sauf l'amendement BIO. Par ailleurs, une classification ascendante hiérarchique sur l'ensemble des composantes principales de l'ACP montre que la variable jour de prélèvement caractériserait le plus la partition en cinq classes : J3 J8 / J-7 J8 J121 J189 / J21 J48 J84 / J224 / J267 (CAH, Figure 17). En termes d'évolution des profils en fonction du temps, on observe que les profils d'émission de COV s'éloignent du

profil du stade initial essentiellement selon la composante 2 initialement jusqu'au huitième jour après apport (Jour après apport, Figure 17). Le profil se déplace ensuite sur l'axe 1 le jour 2 et reste dans une zone resserrée jusqu'au jour 189, pour ensuite à nouveau se déplacer les jours 224 et 267 après apport, les profils sont de nouveau éloignés du stade initial et beaucoup plus intensément qu'après l'apport de PRO. Comme noté plus haut, il est peu probable que le calendrier des interventions culturales puisse expliquer ces évolutions du profil d'émission de COV qui serait plus lié à des évolutions microclimatiques ou biotiques.

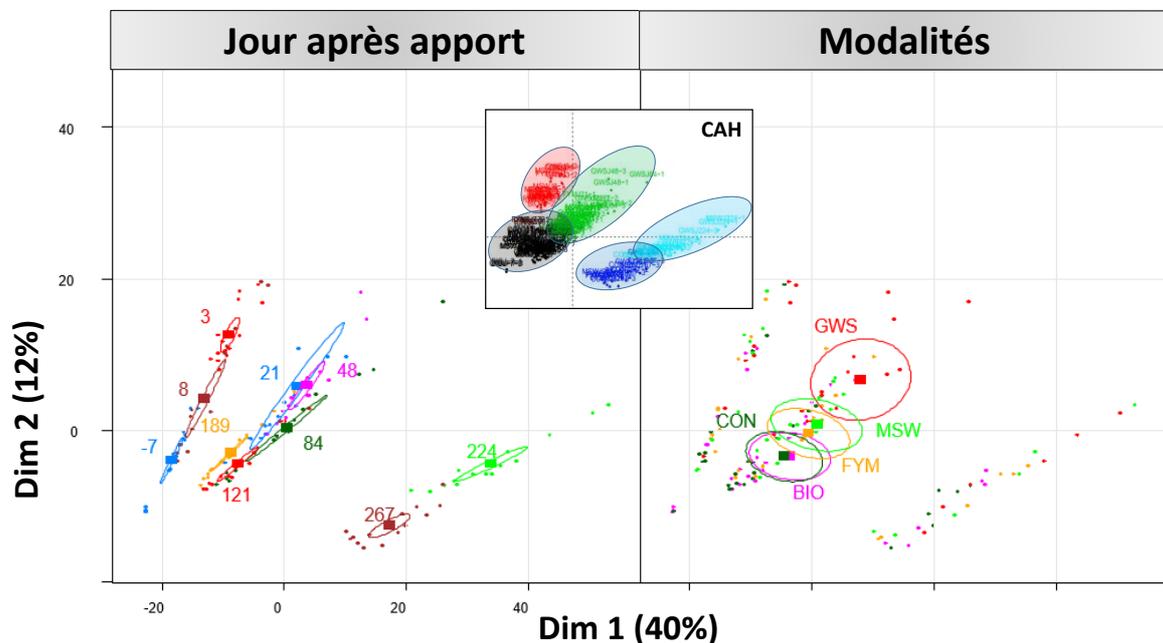


Figure 17 : Analyse en composante principale (ACP) des émissions de COV regroupés par jour après apport ou modalités d'amendement de produits résiduaux organiques (PRO)

NB : Chaque point correspond à un réplicat d'un type de sol à une date de prélèvement ; Les carrés représentent la moyenne de chaque groupe ; Les ellipses correspondent à l'intervalle de confiance à 95 % ; L'insert montre le résultat de la classification ascendante hiérarchique (CAH) sur les mêmes composantes

3.2.5 Analyse de la composition de la Matière Organique

L'analyse des globale MOS par spectroscopie moyen infrarouge a été utilisée afin de générer des signatures caractéristiques des différents traitements. Cette analyse permet d'obtenir une distribution des différents groupements fonctionnels des MOS. Les signatures ont été utilisées par plusieurs auteurs afin de distinguer les MOS dans des sols amendés avec des PRO (exp. Peltre et al., 2017 ; Scotti et al., 2013). Pour les échantillons collectés au champs pendant l'année d'investigations, les profils des MOS n'étaient pas différents quand une ACP a été effectuée pour tous les échantillons par date ou par traitement. La distribution des signatures représentant les MOS par date est présentée dans la Figure 18. Avant l'épandage, le traitement CON s'est différencié des traitements BIO, MWS et FUMIERS, alors que le traitement GWS montrait une signature similaire aux CON. Au cours de l'année, l'apport des amendements a changé la signature des MOS dans les sols amendés. À J8, les signatures MIRS de tous les sols amendés étaient différentes de celle du traitement CON. Il est intéressant de noter, que par la suite à partir du J21, les signatures des MOS convergeaient dans tous les traitements. Ceci pourrait être dû à l'homogénéisation des sols par le labour, ainsi que à la croissance de la biomasse végétale, qui influe grandement sur la composition des MOS par l'activité racinaire (Jackson et al., 2019). Cette hypothèse est soutenue par l'observation des signatures divergentes après récolte (Figure 18).

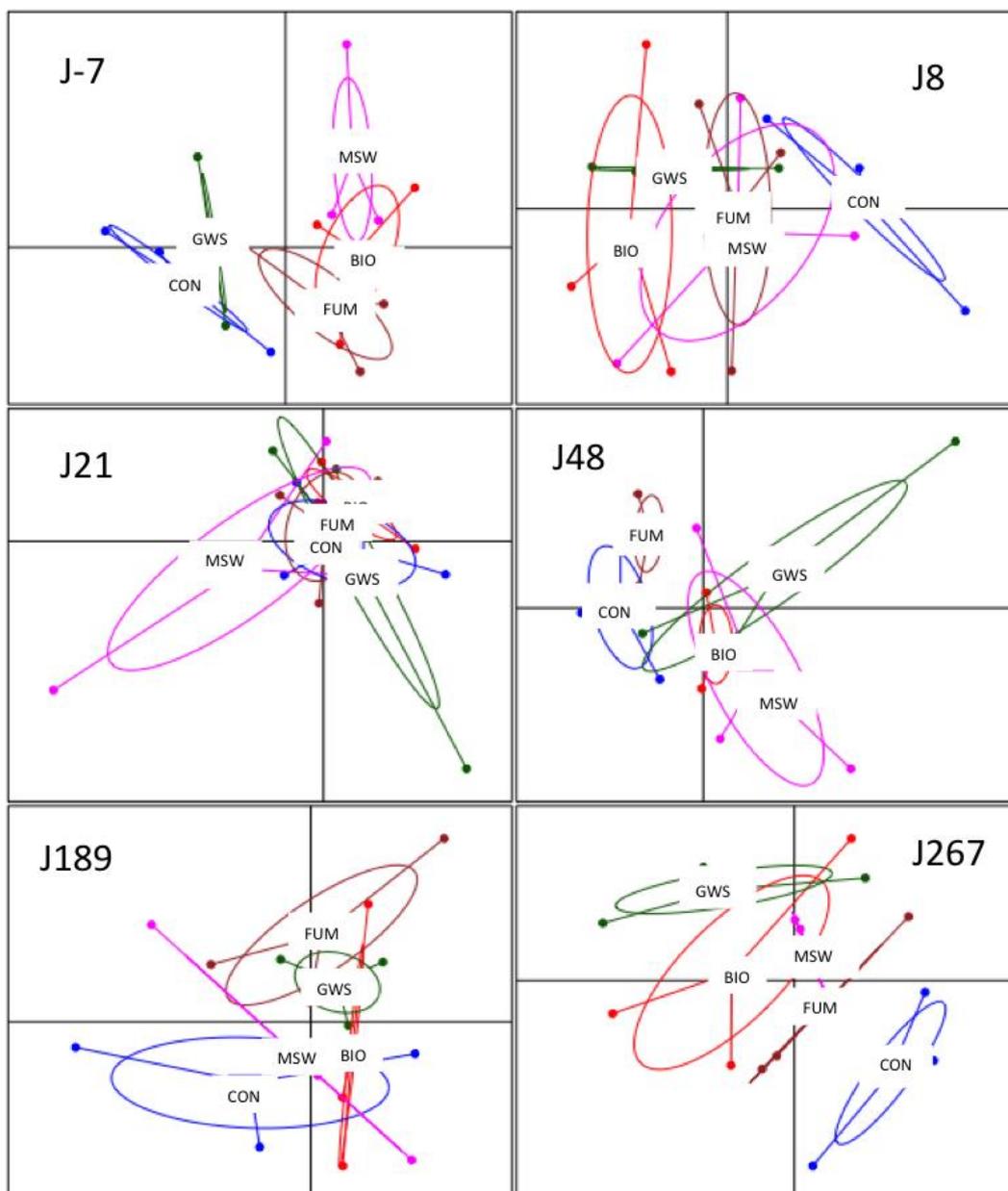


Figure 18 : Signature spectroscopique de moyen infrarouge des MOS des sols amendés par date d'échantillonnage

3.2.6 Partition de variance

Afin d'expliquer les variations de diversité de COV émis au cours de cette expérimentation, nous avons procédé à une analyse statistique permettant d'évaluer la part de variance explicative de différents paramètres (Partition de variance). Nous avons ainsi testé si la diversité microbienne, la physico-chimie des sols ou encore la composition de la matière organique présente dans les sols pouvait expliquer cette variation de diversité de COV émis. Cette analyse a été réalisée pour toutes modalités d'apport confondue. Il s'est avéré que les quantités de COV émises avant l'apport de PRO (J-7) et 48 jours après d'apport étaient expliquées à 35 et 21 % respectivement par une augmentation du nombre d'espèces fongiques présentes dans le sol. Huit jours après apport, les quantités de COV émises étaient expliquées à 29 % par la structure de la matière organique présente dans le sol (diminution de P1169). Ces signaux sont caractéristiques des polysaccharides indiquant, que l'émission des COV pourrait être lié à la décomposition des MOS fraîches. En terme de mécanismes, il reste à savoir, si l'émission des COV est originaire du carbone des MOS par exemple par libération et relargage des molécules volatiles ou originaire des processus métaboliques microbiennes.

Concernant la diversité des composés émis, il s'est avéré que 189 jours après apport, cette diversité était expliquée à 44 et 25 % par une diminution du pH et du nombre d'espèces bactériennes présentes dans les sols respectivement.

4. Recommandations

Les résultats obtenus dans le projet DICOV montrent qu'une diminution de la diversité microbienne, présente dans les sols, peut induire une augmentation des émissions de COV d'une part, et une diminution de la diversité de ces composés d'autre part. Cela pourrait indiquer que les sols avec une moindre diversité microbienne pourraient être propice à des émissions de polluants atmosphérique moindre.

Il est donc recommandé de favoriser des pratiques agricoles permettant de maintenir ou d'augmenter la diversité des micro-organismes présente dans les sols afin de limiter les émissions de composés organiques volatils biogéniques (COV_b) par les sols.

5. Conclusions

Le projet DICOV consiste en une évaluation du rôle de la diversité microbienne et de la composition biochimique de la matière organique des sols (MOS) dans la modulation de l'intensité et de la composition des flux de COV_b émis par ces sols.

Ce projet se décompose en deux phases. La première, réalisée en milieu contrôlé, avait pour but l'évaluation de l'impact de l'apport de produits résiduels organiques (PRO) sur les émissions de COV_b (intensité et composition des flux) en fonction du niveau de diversité des communautés microbiennes du sol. Concernant cette première partie du projet, les résultats obtenus montrent qu'**une diminution de la diversité microbienne des sols induit une augmentation du taux de COV_b émis et une diminution de la diversité des composés émis**. Cela suggère une faible redondance fonctionnelle de la communauté microbienne des sols dans les processus d'émissions de COV.

Par ailleurs, cette étude suggère que certains phyla microbiens (Proteobacteria, Bacteroidetes et la plupart des phyla fongiques) sont des producteurs de COV_b tandis que les autres sont des consommateurs. Des recherches plus poussées sont nécessaires pour finaliser l'interprétation de ces corrélations.

Au champ, les résultats obtenus ont montré qu'avec ou sans apport de PRO, les profils d'émission de COV évoluaient au cours du temps. Ces évolutions ne semblent pas liées aux itinéraires techniques des parcelles (travail du sol, semis), mais piloté par des facteurs microclimatiques, notamment la diversité des COV émis qui augmente fortement au printemps après une augmentation significative des températures. La décomposition de la matière organique dans les sols (MOS fraîche) pourrait être un facteur favorisant l'émission des COV.

D'autre part, les profils d'émission de COV sont variables d'une parcelle à l'autre, montrant que le type de PRO apporté modifie la composition moléculaire des MOS et détermine l'évolution des profils d'émission de COV. Ainsi, comme anticipé, les apports de PRO provoquant les plus fortes augmentations de matière organique dans les sols ont engendré les émissions les plus fortes, et ceci sur une longue partie du cycle cultural.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abis, L., 2019. Study of the effect of organic waste products amendments (OWPs) and microbial diversity on volatile organic compounds (VOCs) emissions by soil. Sorbonne Université.
- Abis, L., Loubet, B., Ciuraru, R., Lafouge, F., Houot, S., Nowak, V., Tripied, J., Dequiedt, S., Maron, P.A., Sadet-Bourgeteau, S., 2020. Reduced microbial diversity induces larger volatile organic compound emissions from soils. *Sci Rep* 10, 6104 (Doi 10.1038/s41598-020-63091-8).
- Abis L. , Loubet B. , Ciuraru R., Lafouge F., Dequiedt S., Houot, Dequiedt S., Maron P.A., Bourgeteau-Sadet S., 2018. Profiles of volatile organic compound emissions from soils amended with organic waste products, *STOTEN*, 636, 1333-1343. (Doi 10.1016/j.scitotenv.2018.04.232)
- Baumann, K., Dignac, M.-F., Rumpel, C., Bardoux, G., Sarr, A., Steffens, M., Maron, P.-A., 2013. Soil microbial diversity affects soil organic matter decomposition in a silty grassland soil. *Biogeochemistry* 114, 201-212.
- Bressan, M., Mougél, C., Dequiedt, S., Maron, P.A., Lemanceau, P., Ranjard, L., 2008. Response of soil bacterial community structure to successive perturbations of different types and intensities. *Environmental Microbiology* 10, 2184-2187.
- Eusterhues, K., Rumpel, C., Kögel-Knabner, I., 2007. Composition and radiocarbon age of HF-resistant soil organic matter in a Podzol and a Cambisol. *Organic Geochemistry* 38, 1356-1372.
- Faiola, C.L., 2014. Chemical characterization of biogenic secondary organic aerosol generated from the oxidation of plant and leaf litter emissions. Washington State University.
- Fuentes, J.D., Gu, L., Lerdau, M., Atkinson, R., Baldocchi, D., Bottenheim, J., Ciccioli, P., Lamb, B., Geron, C., Guenther, A., 2000. Biogenic hydrocarbons in the atmospheric boundary layer: a review. *Bulletin of the American Meteorological Society* 81, 1537-1575.
- Insam, H., Seewald, M.S.A., 2010. Volatile organic compounds (VOCs) in soils. *Biology and Fertility of Soils* 46, 199-213.
- Jackson, O., Quilliam, R.S., Stott, A., Grant, H., Subke, J.-A., 2019. Rhizosphere carbon supply accelerates soil organic matter decomposition in the presence of fresh organic substrates. *Plant and Soil* 440, 473-490.
- Leff, J.W., Fierer, N., 2008. Volatile organic compound (VOC) emissions from soil and litter samples. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 1629-1636.
- Peltre, C., Gregorich, E., Bruun, S., Jensen, L.S., Magid, J., 2017. Repeated application of organic waste affects soil organic matter composition: Evidence from thermal analysis, FTIR-PAS, amino sugars and lignin biomarkers. *Soil Biology and Biochemistry* 104, 117-127.
- Philippot, L., Spor, A., Hénault, C., Bru, D., Bizouard, F., Jones, C.M., Sarr, A., Maron, P.-A., 2013. Loss in microbial diversity affects nitrogen cycling in soil. *The ISME journal* 7, 1609-1619.
- Scotti, R., Conte, P., Berns, A.E., Alonzo, G., Rao, M.A., 2013. Effect of organic amendments on the evolution of soil organic matter in soils stressed by intensive agricultural practices. *Current organic chemistry*, 17, 2998-3005.
- Simpson, D., Guenther, A., Hewitt, C.N., Steinbrecher, R., 1995. Biogenic emissions in Europe: 1. Estimates and uncertainties. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* (1984–2012) 100, 22875-22890.
- Tardy, V., Mathieu, O., Lévêque, J., Terrat, S., Chabbi, A., Lemanceau, P., Ranjard, L., Maron, P.-A., 2014. Stability of soil microbial structure and activity depends on microbial diversity. *Environmental Microbiology Reports* 6, 173-183.
- Vivant, A.-L., Garmyn, D., Maron, P.-A., Nowak, V., Piveteau, P., 2013. Microbial diversity and structure are drivers of the biological barrier effect against *Listeria monocytogenes* in soil. *PLoS ONE* 8.
- Zegouagh, Y., S. Derenne, M.-F. Dignac, E. Baruiso, A. Mariotti, Largeau, C., 2004: Demineralisation of a crop soil by mild hydrofluoric acid treatment. Influence on organic matter composition and pyrolysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 71, 119-135.

INDEX DES TABLEAUX ET FIGURES

FIGURES :

Figure 1 : Plan du dispositif expérimental QualiAgro (Resseguier, Mercier)	8
Figure 2 : Photos illustrant l'expérimentation de manipulation de dilution de diversité	9
Figure 3 : Manipulation de la diversité microbienne des sols.....	10
Figure 4 : Calendrier des opérations culturales et prélèvement des sols en jour après l'apport de PRO	12
Figure 5 : Données météorologiques relevées sur le site expérimental de SOERE-PRO QualiAgro durant la période de prélèvements au champ du projet DICOV.....	12
Figure 6 : Les dispositifs de mesure des COV utilisés lors de l'expérimentation de la première phase de l'étude DICOV (manipulation de diversité).....	13
Figure 7 : Illustrations du dispositif de prélèvement et de mesures des COV de l'expérimentation de la 2 ^{ème} phase du projet.....	14
Figure 8 : Analyse en composante principale de la physico-chimie des sols prélevés sur le site QualiAgro.....	18
Figure 9 : Analyse en composante principale de la physico-chimie des sols prélevés sur le site QualiAgro.....	19
Figure 10 : Contribution des molécules expliquant la variabilité des échantillons selon l'axe 1 (Figure 9).....	19
Figure 11 : Effet de la manipulation de dilution de diversité sur la diversité microbienne des sols provenant des microcosmes	21
Figure 12 : Effet de la manipulation de dilution de diversité sur la composition microbienne (bactéries et champignons) des sols provenant des microcosmes	22
Figure 13 : Effet de la manipulation de dilution de diversité microbienne des sols sur la quantité et la diversité des COV émis par les sols	23
Figure 14 : Cinétique d'évolution de la biomasse moléculaire microbienne (a), et de la structure de la communauté bactérienne (b) et fongique (c) dans les différentes parcelles du site QualiAgro	26
Figure 15 : Indice de diversité et concentration totale en COV au cours de la saison	28
Figure 16 : Composition des émissions de COV par produits résiduaux organiques (PRO) et date de prélèvement	28
Figure 17 : Analyse en composante principale (ACP) des émissions de COV regroupés par jour après apport ou modalités d'amendement de produits résiduaux organiques (PRO).....	29
Figure 18 : Signature spectroscopique de moyen infrarouge des MOS des sols amendés par date d'échantillonnage	30

TABLEAUX :

Tableau 1 : Successions culturales et épandages de PRO du site Qualiagro	9
Tableau 2 : Calendrier des opérations culturales (en bleu) et des mesures réalisées (en noir)	11
Tableau 3 : Effet de la manipulation de dilution de diversité sur la biomasse moléculaire microbienne des sols provenant des microcosmes.....	20
Tableau 4 : Cinétique d'évolution des paramètres physico-chimique du sol dans les différentes parcelles du site QualiAgro.....	25

SIGLES ET ACRONYMES

COV	Composés Organiques Volatils
COV_b	Composés Organiques Volatils Biogéniques (d'origine biotique : plantes, microorganismes)
BIO	Compost de biodéchets
CON	Aucun amendement organique
FYM	Fumier de bovins
GWS	Compost de boue d'épuration
MSW	Compost d'ordures ménagères résiduelles
PRO	Produits Résiduaire Organiques

L'ADEME EN BREF

À l'ADEME - l'Agence de la transition écologique -, nous sommes résolument engagés dans la lutte contre le réchauffement climatique et la dégradation des ressources.

Sur tous les fronts, nous mobilisons les citoyens, les acteurs économiques et les territoires, leur donnons les moyens de progresser vers une société économe en ressources, plus sobre en carbone, plus juste et harmonieuse.

Dans tous les domaines - énergie, économie circulaire, alimentation, mobilité, qualité de l'air, adaptation au changement climatique, sols... - nous conseillons, facilitons et aidons au financement de nombreux projets, de la recherche jusqu'au partage des solutions.

À tous les niveaux, nous mettons nos capacités d'expertise et de prospective au service des politiques publiques.

L'ADEME est un établissement public sous la tutelle du ministère de la Transition écologique et du ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation.

LES COLLECTIONS DE L'ADEME



FAITS ET CHIFFRES

L'ADEME référent : Elle fournit des analyses objectives à partir d'indicateurs chiffrés régulièrement mis à jour.



CLÉS POUR AGIR

L'ADEME facilitateur : Elle élabore des guides pratiques pour aider les acteurs à mettre en œuvre leurs projets de façon méthodique et/ou en conformité avec la réglementation.



ILS L'ONT FAIT

L'ADEME catalyseur : Les acteurs témoignent de leurs expériences et partagent leur savoir-faire.



EXPERTISES

L'ADEME expert : Elle rend compte des résultats de recherches, études et réalisations collectives menées sous son regard



HORIZONS

L'ADEME tournée vers l'avenir : Elle propose une vision prospective et réaliste des enjeux de la transition énergétique et écologique, pour un futur désirable à construire ensemble.



ÉMISSIONS DE COMPOSÉS ORGANIQUES VOLATILS BIOGÉNIQUES (COV_b) PAR LES SOLS AGRICOLES

Le projet DICOV a permis d'acquérir de nombreux résultats sur les COV_b émis par les sols agricoles, en menant des essais au laboratoire en milieu contrôlé et sur le terrain.

Au laboratoire, un gradient de diversité a été établi par une manipulation des communautés microbiennes selon une approche de dilution-extinction. Des mesures de COV_b ont été réalisées en parallèle. Les résultats obtenus montrent que la quantité de COV_b émis est plus importante dans des sols présentant une diversité microbienne faible. D'autre part, ces sols contenant une diversité microbienne moindre, auraient également des profils d'émission de COV_b différents avec une diversité de composés émis plus faiblement.

Sur le terrain, des prélèvements de sols et des mesures de COV_b ont été réalisés pendant une année environ, et chaque mois, sur des parcelles agricoles ayant été amendées avec différents types de matière organique. Les résultats obtenus montrent, pour l'ensemble des parcelles considérées (y compris celles n'ayant pas reçu d'apport), qu'au cours du temps, les quantités de COV_b émises ne varient pas ou peu, contrairement à la diversité des composés émis et aux profils d'émission.

***Une diminution de la diversité
microbienne des sols induit une
augmentation du taux de COV émis
et une diminution de la diversité des
composés émis.***

