



HAL
open science

Réponse des graminées des prairies permanentes à l'acidité, à l'aluminium et à la fertilisation (N, P)

Vahid Poozesh

► **To cite this version:**

Vahid Poozesh. Réponse des graminées des prairies permanentes à l'acidité, à l'aluminium et à la fertilisation (N, P) : Relations avec les traits fonctionnels. Ecosystèmes. Institut National Polytechnique (Toulouse), 2007. Français. NNT: 2007INPT006A . tel-04622304

HAL Id: tel-04622304

<https://ut3-toulouseinp.hal.science/tel-04622304>

Submitted on 24 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.

N° d'ordre :

THESE

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE TOULOUSE

Ecole Doctorale SEVAB

Spécialité : Fonctionnement des Ecosystèmes et Agrosystèmes

Présentée et soutenue publiquement

Par

Vahid Poozesh

Le 28 juin 2007

Réponse des graminées des prairies permanentes à l'acidité, à l'aluminium et à la fertilisation (N, P) : relations avec les traits fonctionnels

Composition du Jury

| | | |
|--------------------|-----------------------------|------------------------|
| Sylvain Plantureux | Professeur ENSAIA | Président |
| Georges Bertoni | Maître de Conférences ENSAT | Directeur de Thèse |
| Pablo Cruz | Chargé de Recherche INRA | Co- Directeur de Thèse |
| Christian Huyghe | Directeur de Recherche INRA | Rapporteur |
| Benoît Jaillard | Directeur de Recherche INRA | Rapporteur |
| Michel Duru | Directeur de Recherche INRA | Membre |

Remerciements

Je vais garder de ces quatre années le souvenir d'un travail agréable et enrichissant, c'est en grande partie grâce aux deux personnes avec qui j'ai le plus travaillé, Georges Bertoni et Pablo Cruz. J'adresse toute ma gratitude et mon profond respect à Georges Bertoni qui m'a ouvert les portes de l'agronomie et de la recherche depuis plus de 3 années. Pour son encadrement attentif, constructif, instructif, pour sa disponibilité face à mes nombreuses sollicitations, et pour sa patience face à l'entêtement que j'ai parfois manifesté. Pablo Cruz m'a accompagné sur le chemin de la thèse avec de la patience, de la fermeté, une grande compétence et beaucoup de gentillesse. Je lui exprime toute ma reconnaissance et mon amitié. Je tiens à remercier le Ministre des Sciences, de la Recherche, de la Technologie et de l'Education supérieure d'Iran pour avoir financé cette étude.

Je remercie Michel Duru, directeur de l'unité, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire.

Le comité de pilotage réuni régulièrement m'a permis de mieux construire et d'interpréter mon travail, merci à Pierre Castillon, Philippe Choler, Claire Jouany et Michel Duru d'avoir consacré une partie de leur temps à conseiller et orienter ce travail.

Mes remerciements vont également à Benoît Jaillard et Christian Huyghe qui me font l'honneur de juger mon travail comme rapporteurs et Sylvain Plantureux comme membre de jury. Qu'ils soient assurés de ma profonde reconnaissance.

Je remercie Daniel Sayag pour son aide précieuse pour toutes les traductions en anglais, pour ses suggestions de rédaction et pour son aide pour le commentaire des données de sol. Merci aussi à tous ceux qui m'ont conseillé et ont participé à l'encadrement scientifique.

Cette thèse n'aurait pas été possible sans la collaboration et l'aide de Pierre Castillon qui m'a donné accès aux données de l'essai de Massat qu'il pilotait avec Yves Rauzy et le propriétaire de ce champ d'essai.

Merci à tous ceux qui m'ont soutenu et aidé, à Eric Lecloux, Héloïse Gonzalo-Turpin, Paul Laurent, Colette Quinquiry, Geneviève Santoro, Patrick Petibon, Benoît Gleizes, Jean-Pierre Theau et merci à Fanny Berger, Loïc Lebranchu et François Flottes (mes stagiaires) et enfin à tous les membres du laboratoire pour m'avoir accompagné durant ces quatre années.

Merci à mes parents qui toujours m'ont protégé et encouragé durant toute ma vie. Sans vous, je n'y serais pas arrivé. J'espère que vous êtes tout simplement fiers de moi, et je vous dédie ce travail. Merci à toute ma famille et à mes amis sur qui je peux toujours compter.

Enfin, merci à ma Sara chérie, et ma fille, Kimiya, pour leur patience et leur soutien chaleureux pendant ces années.

Je finirai par ces quelques mots de Khayyam mathématicien et poète persan :

Le temps s'échappe à tire-d'aile? Sois sans peur.
Et l'heureux sort n'est pas éternel? Sois sans peur.
Profite de l'instant que te vaut la Fortune.
Sans regret, sans regard vers le ciel, sois sans peur.

Aujourd'hui sur demain tu ne peux avoir prise.
Penser au lendemain, c'est être d'humeur grise.
Ne perds pas cet instant, si ton cœur n'est pas noir
Car nul ne sait comment nos demains se déguisent.

Auteur : Vahid Poozesh

Titre : Réponse des graminées des prairies permanentes à l'acidité, à l'aluminium et à la fertilisation (N, P) : relations avec les traits fonctionnels.

Directeurs de thèse : Georges BERTONI (Directeur) et Pablo CRUZ (Co Directeur)

Lieu et date de soutenance : Toulouse, le 28 juin 2007

RESUME :

La réponse à l'acidité du sol et à la toxicité de Al de graminées des prairies acides (*A. capillaris*, *B. pinnatum*, *F. rubra*, *M. caerulea*, *S. decumbens*, *H. sulcatum*) a été étudiée en plein champ dans des prairies extensives des Pyrénées (pH eau 5.0 – 6.0), en culture en pot sur sol acide (pH eau 4.1 – 5.1) et pauvre en P et en solution nutritive en chambre de culture. Dans l'essai agronomique de plein champ, la fertilisation réduit leur nombre tandis qu'un chaulage modéré de surface (pH 6.0) conserve les mêmes espèces. La biomasse aérienne est faible et limitée par l'acidité et la fertilité. La biomasse dépend de la fertilisation (+ 3.1 tonnes de matière sèche par ha et par an en moyenne sur trois ans) et peu du chaulage (+ 0.2 t.ha⁻¹.an⁻¹). L'analyse des réponses de chaque espèce en culture en pot a montré l'importance de l'alimentation en P sur la croissance des parties aériennes et des racines. Une meilleure nutrition en P permet une meilleure croissance racinaire, qui peut participer à l'explication de la faible différence de biomasse entre traitements fertilisés et fertilisés chaulés. Le potentiel de toxicité de Al, principal facteur toxique dans les sols acides minéraux a été estimé par différents paramètres (Al échangeable 4- 8 me / 100g ; activité de Al dans la solution du sol, 1 – 8 µM). Le niveau de toxicité de Al relativement faible et le caractère limitant de l'alimentation en P expliquent le faible effet du chaulage apporté seul sans fertilisation. Ce faible effet suggère que les espèces présentes sont adaptées à un niveau faible de toxicité de Al et à la faible fertilité du milieu. L'étude de la liaison entre les traits fonctionnels des graminées et leur résistance à la toxicité de Al a montré que la résistance à Al est indépendante des traits teneur en matière sèche (TMS) et vitesse de croissance. Cependant un groupe homogène d'espèces tolérantes au stress, à faible vitesse de croissance et forte TMS, montre un potentiel de résistance à Al, cohérent avec les observations en plein champ. Les différences de résistance à Al entre espèces de graminées pourraient aider à diagnostiquer le risque de toxicité de Al en sol acide et la réactivité des milieux au chaulage.

MOTS CLES :

Praires, Sol acide, Aluminium, Traits fonctionnels, Chaulage, Phosphore, Graminées, Teneur en matière sèche, Vitesse de croissance.

Author: Vahid Poozesh

Title: Response of permanent grassland grasses to acidity, aluminium toxicity and fertilization (N, P): relation with the functional traits.

Thesis Directors: Georges Bertonni (Director) and Pablo Cruz (Co Director)

Location and Date: Toulouse, 28 June 2007

ABSTRACT

The response of acid meadow grasses (*A. capillaris*, *B. pinnatum*, *F. rubra*, *M. caerulea*, *S. decumbens*, *H. sulcatum*) to soil acidity and aluminium toxicity was investigated in the field on extensive meadows in the Pyrenees (pH H₂O 5.0 – 6.0), in pots containing an acid soil (4.1 – 5.1) with low available phosphorus and on nutrient solutions in a growth chamber. In the field agronomic trial, fertilization decreased the number of species whereas moderate surface liming to pH 6.0 maintained the same grass species. The above - ground biomass was low and limited by acidity and fertility; the biomass depended mostly on fertilization (+3.1 tons of dry matter per ha per yr, on the average, over 3 years) and hardly on liming (+0.2 tons.ha⁻¹.yr⁻¹).

The analysis of the responses of each species in pot culture showed the decisive effect of P nutrition on the growth of the aerial parts and of the roots. Enhanced P nutrition resulted in increased root growth, which may account for the low difference in biomass between fertilized and fertilized-limed treatments. The aluminium toxicity potential, as the major toxic factor in mineral acid soils, was assessed by various parameters (exchangeable Al: 4-8 me / 100g; Al activity in the soil solution: 1-8 µM). The relatively low level of Al toxicity and the limiting effect of P nutrition account for the low effect of liming in the absence of fertilization. The low effect observed suggests that the naturally occurring species are adapted to a low level of Al toxicity and to a nutrient poor medium. The investigation of the links between the functional traits of the grasses and their resistance to Al toxicity showed that resistance to Al is independent of the leaf dry matter content and growth rate traits. However, a homogeneous group of stress tolerant species with a low growth rate and a high leaf dry matter content exhibited an Al resistance potential which was consistent with the field observations. The difference in resistance to Al between grass species might be helpful for the diagnosis of the Al toxicity hazard in acid soils and of the reactivity of the media to liming.

KEYWORDS :

Grassland, Acids soils, Aluminium, Functional traits, Liming, Phosphorus, Grasses, Dry mater content, Growth rate.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE

| | |
|--|-----------|
| 1. Extensification et conservation des prairies de montagne: les enjeux | 12 |
| 2. Hypothèses et objectifs généraux du travail | 13 |

CHAPITRE I. BIBLIOGRAPHIE: L'ACIDITE DES SOLS ET SON INFLUENCE SUR LES VEGETAUX

| | |
|---|-----------|
| 1. L'acidité des sols | 17 |
| 1.1. Les sols acides en Europe | 17 |
| 1.2. L'acidification | 18 |
| 1.3. Les problèmes nutritionnels des sols acides | 20 |
| 1.4. Les formes toxiques de Al dans la solution du sol | 22 |
| 1.5. L'effet des phosphates | 23 |
| 1.6. Le chaulage | 25 |
| 1.6.1. Particularités du chaulage des prairies | 26 |
| 1.6.2. Intérêt économique du chaulage | 27 |
| 2. Influence de l'acidité du sol sur la végétation prairiale | 27 |
| 2.1. Effet de la faible fertilité des sols acides | 27 |
| 2.2. Effet de l'acidité sur la biodiversité végétale | 29 |
| 2.3. Exemple de la flore des prairies acides Pyrénéennes | 33 |
| 3. Rôle de la résistance à Al dans la sélection des espèces prairiales | 33 |
| 4 Fertilisation des prairies permanentes | 35 |
| 5. Conclusion et objectifs du travail. | 36 |

CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES

| | |
|---|-----------|
| 1. Typologie des graminées prairiales des sols acides et pauvres | 41 |
| 1.1. Matériel végétal | 41 |
| 1.2. Conditions de culture | 41 |
| 1.3. Solution nutritive | 43 |
| 1.4. Mesure des traits foliaires | 43 |
| 1.5. Réponse au manque d'azote | 44 |
| 1.5.1. Variables mesurées à la récolte | 44 |
| 1.5.2. Variables physiologiques calculées | 44 |
| 1.6. Analyse statistique | 44 |
| | |
| 2. Réponse au chaulage et aux engrais :essai de plein champ | 45 |
| 2.1. Localisation, historique de la conduite et dispositif d'essai | 45 |
| 2.2. Climat | 45 |
| 2.3. Sol | 47 |
| 2.4. La composition botanique | 47 |
| 2.5. Biomasse | 47 |
| 2.6. Indices de nutrition | 49 |
| 2.7. Statistique | 49 |
| | |
| 3. Réponse spécifique des espèces en culture en pot | 50 |
| 3.1. Choix des espèces | 50 |
| 3.2. Sol | 50 |
| 3.3. Traitements | 50 |
| 3.4. Dispositif | 52 |
| 3.5. Conditions de culture | 52 |
| 3.6. Mesures des parties aériennes | 52 |
| 3.7. Mesure des racines | 53 |
| 3.8. Analyse statistique | 53 |

| | |
|---|-----------|
| 4. Résistance à Al en solution nutritive | 55 |
| 4.1. Evaluation de la résistance spécifique à l'aluminium | 55 |
| 4.2. Conditions générales | 55 |
| 4.3. Solution nutritive | 55 |
| 4.4. Quantification de la résistance à Al | 56 |
| 4.5. Analyse statistique | 56 |

CHAPITRE III. RESULTATS

| | |
|---|-----------|
| 1. Typologie des graminées des sols acides et pauvres | 59 |
| 1.1 Vue d'ensemble des traits des espèces | 59 |
| 1.2. Typologie des espèces | 61 |
| 1.3. Relation entre traits mesurés dans des environnements différents | 63 |
| 1.4. Réponse à l'azote | 63 |
| 1.4.1. RGR | 65 |
| 1.4.2. Plasticité par rapport à l'azote | 65 |
| 1.4.3. Rapport parties aériennes / racine | 67 |
| 1.4.4. Traits foliaires | 67 |
| 1.4.5. Relation RGR /réponse des traits à la carence | 69 |
| 1.4.6. Traits physiologiques | 69 |
| 1.4.7. Teneur en azote foliaire | 71 |
| 1.5. Conclusion | 72 |
| 2. Réponse au chaulage et aux engrais d'une prairie de sol acide | 75 |
| 2.1. Activité de Al dans la solution du sol | 75 |
| 2.2. Production de biomasse | 77 |
| 2.3. Occurrence des graminées dans les différents traitements | 78 |
| 2.4. Abondance des espèces | 78 |
| 2.5. Traits pondérés à la parcelle | 80 |
| 2.6. Indices de nutrition IN IP IK | 80 |
| 2.7. Conclusion | 82 |

| | |
|---|-----------|
| 3. Etude de la réponse spécifique en culture sur sol en pot | 83 |
| 3.1. Effet des traitements sur le pH du sol | 83 |
| 3.2. Vue d'ensemble de l'effet des traitements | 83 |
| 3.3. Réponse des espèces présentes à Massat | 83 |
| 3.3.1. Réponse des espèces présentes à Massat aux traitements T, NP, CaO, CaO NP | 85 |
| 3.3.2. Réponse des espèces à forte productivité absentes (<i>L. perenne</i> , <i>D. glomerata</i>) ou peu présentes (<i>H. lanatus</i>) à Massat | 85 |
| 3.4. Distinction de l'effet des éléments N et P | 87 |
| 3.5. Effet des traitements sur la biomasse de racines | 89 |
| 3.6. Interprétation de l'effet chaux | 89 |
| 3.7. Conclusion | 91 |

| | |
|---|-----------|
| 4. Résistance à Al en solution nutritive | 93 |
| 4.1. Classement relatif de quelques espèces d'intérêt pour l'équipe Orphée | 93 |
| 4.2. Résistance à Al des brachypodes | 93 |
| 4.3. Caractérisation de la résistance à Al de <i>H. lanatus</i> et <i>A. odoratum</i> | 95 |
| 4.4. Caractérisation de quelques espèces résistantes | 95 |
| 4.5. Article Annals of Botany | 97 |

CHAPITRE IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

| | |
|---|------------|
| 1. Conclusion | 107 |
| 1.1. La diversité des graminées de sol acide | 107 |
| 1.2. Productivité des prairies | 108 |
| 1.3. La réponse des espèces à la toxicité de Al | 109 |
| 1.4. Typologie des espèces et résistance à Al | 110 |

| | |
|------------------------|------------|
| 2. Perspectives | 110 |
|------------------------|------------|

| | |
|-----------------------------|-----|
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 113 |
|-----------------------------|-----|

ANNEXES

| | |
|---|-----|
| Annexe 1. Données statistiques | 127 |
| Annexe 2. Cartographie et géologie de la zone de récolte des semences | 128 |
| Annexe 3. Photographies de l'essai de Massat | 129 |
| Annexe 4. Abondance des espèces à Massat, juin 2005 | 130 |
| Annexe 5. Tableau des corrélations entre traits (traitement témoin) | 132 |
| Annexe 6. Vue des parties aériennes de quelques espèces dans l'essai en pot | 134 |
| Annexe 7. Analyse de la solution du sol sur deux séries d'échantillons | 136 |
| Annexe 8. Teneur en éléments minéraux des parties aériennes (Essai en pot) | 137 |

LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

| | |
|-----|---|
| Ac | <i>Agrostis capillaris</i> |
| ACP | L'analyse en composantes principales |
| Ae | <i>Arrhenatherum elatius</i> |
| Ao | <i>Anthoxanthum odoratum</i> |
| Bm | <i>Briza media</i> |
| Bp | <i>Brachypodium pinnatum</i> |
| Bs | <i>Brachypodium sylvaticum</i> |
| Cc | <i>Cynosurus cristatus</i> |
| Dg | <i>Dactylis glomerata</i> |
| EF | L'épaisseur moyenne des feuilles |
| Fe | <i>Festuca ezkia</i> |
| Fr | <i>Festuca rubra</i> |
| HI | <i>Holcus lanatus</i> |
| Hs | <i>Helictotrichon sulcatum</i> |
| LAR | leaf area ratio ($\text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1} \text{ms}$) |
| Lp | <i>Lolium perenne</i> |
| Lpc | <i>Lolium perenne</i> cv Clerpin |
| Mc | <i>Molinia caerulea</i> |
| NAR | net assimilation rate ($\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{j}^{-1}$) |
| Ns | <i>Nardus stricta</i> |
| PAR | photosynthetically active radiation ($\mu\text{moles} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) |
| RGR | relative growth rate ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$) |
| RRE | Relative root elongation |
| Sd | <i>Sieglingia decumbens</i> |
| SSF | surface spécifique foliaire ($\text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1} \text{ms}$) |
| TMS | teneur en matière sèche ($\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$) |

INTRODUCTION GENERALE

Les prairies occupent 117 millions de km² dans le monde, nourrissent la faune sauvage et fournissent le fourrage de plus de 1800 millions d'unités de gros bétail (World Resources Institute, 2000). Elles jouent un rôle écologique majeur comme protection contre l'érosion des sols, comme habitat et comme refuge d'espèces menacées. Chaque type de prairie correspond à un écosystème particulier et participe au maintien de la biodiversité. Les prairies sont utilisées par la faune sauvage à divers titres : zone d'alimentation, zone de reproduction et de refuge. Les graminées sont une ressource renouvelable qui présente différentes valeurs primaires, nutritive (fourrages), industrielle (fibres, carburants) ou médicale. La biodiversité des plantes nécessaires pour maintenir le couvert, la biodiversité des animaux et la participation générale au fonctionnement des écosystèmes (flux d'eau, de carbone et d'énergie) constituent des valeurs secondaires. Cependant, en France, le besoin d'une productivité accrue dans l'agriculture a diminué la surface des prairies d'environ 30% depuis 1960 avec une perte d'environ 5 millions d'hectares, au profit de cultures fourragères annuelles comme le maïs ensilage ou les prairies temporaires (Véron *et al.*, 2001). Au sein des surfaces en herbe, les couverts permanents ont été les plus touchés avec une disparition de 3 millions d'hectares de Surface Toujours en Herbe (STH) sur la période (1980-2005). Sur la période 1997 – 2005, la surface des prairies extensives peu productives de l'Ariège (parcours, landes, alpages,..) a diminué comme la STH de Midi Pyrénées (-8 % vs -7 %, **Annexe 1**).

Par la suite, les événements qui ont atteint la santé publique, comme la crise de la vache folle (1996) ont déclenché une demande sociale pour une alimentation plus « naturelle » des animaux d'élevage. Elle n'a pas ralenti la diminution des surfaces de prairie, qui ne commence à être enrayerée qu'avec la PAC 2003. Elle a cependant amené un regain d'intérêt pour les couverts diversifiés et porteur d'une image « naturelle ». Les prairies constituent 47 % des ressources en fourragères dans toute la France en 2002-2003 (Agreste-Bilans fourragers). Les prairies et cultures fourragères, qui représentent près de la moitié de la surface agricole utiles en France, sont essentiellement valorisées pour la production animale au sein de l'exploitation agricole et, in fine, pour la consommation de produits laitiers et de viande (Huyghe, 2005). Pour les prairies naturelles en zone d'élevage, la fonction agricole de l'écosystème est d'alimenter les herbivores domestiques, et les principales fonctions environnementales sont de maintenir un milieu ouvert non propice à l'incendie, peu sensible à l'érosion et une certaine diversité spécifique.

A l'échelle du paysage, la plus grande diversité d'espèces est obtenue dans les systèmes mixtes (prairies, cultures, forêts) dominés par les prairies, même intensives (Plantureux *et al.*, 2005). Dans les prairies considérées seules, la diversité d'espèces semble passer par un optimum de nutrition : les situations trop pauvres ou trop fertiles diminuent la richesse en espèces (Bahmani *et al.*, 2002). Dans la situation économique actuelle les systèmes prairiaux moins intensifs ne peuvent se maintenir que dans le cadre d'une aide économique à l'exploitation : aide aux zones peu favorisées, primes environnementales (Européenne Environment Agency (EEA), 1999).

1. Extensification et conservation des prairies de montagne : les enjeux

Le maintien d'une production prairiale « naturelle » n'est pas synonyme d'abandon, car la prairie est un système qui ne se maintient que par l'exploitation du fourrage par la fauche ou la pâture (Fothergill *et al.* 2002, Marriotta *et al.*, 2004) : l'abandon pur et simple conduit à l'apparition d'herbes de grandes taille et de mauvaise qualité fourragère et à l'envahissement par des plantes ligneuses, la prairie évolue vers la friche, sensible à l'incendie, puis vers la forêt et un paysage fermé. La conservation des paysages ouverts, de la biodiversité et d'une certaine activité agricole basée sur les prairies naturelles implique donc le maintien d'une exploitation minimum.

Revaloriser l'usage de la prairie permanente demande à réévaluer les besoins en fonction d'objectifs de production qui seront moins intensifs mais qui garderont une composante à long terme : la conservation ou la durabilité de la prairie. Il est nécessaire, par exemple, de réfléchir au chargement animal minimum sur les prairies extensives, à l'intérêt de la flore pour une utilisation plus précoce ou plus tardive par l'éleveur, aux changements possibles dans la saison de pâturage, au choix d'espèces animales à maintenir, aux combinaisons du pâturage et de la fauche et à la réductions de la fréquence de fauche, des coûts fixes et du travail. Dans les réductions d'intrants, il est nécessaire de réfléchir à une fertilisation minimale (nature des fertilisants et quantité) et à un niveau minimal d'entretien du pH du sol.

Dans les prairies de collines et de montagne, il y a peu de connaissance sur les procédures de gestion appropriées à une extensification et sur la durée des processus en jeu (Fisher et Rahmann, 1997). L'appauvrissement en P pourrait prendre de 10 à 20 ans pour des prairies riches (Smith *et al.*, 2003). L'évolution de la diversité des espèces pourrait demander plus de 10 ans en général (Marriotta *et al.*, 2004). L'influence d'autres processus (brûlis) peut demander jusqu'à 25 ans (Moog *et al.*, 2002). Il est donc nécessaire de mettre en place des

outils et programmes pour mieux suivre l'évolution de ces prairies naturelles et leur diversité d'espèces. Ces problèmes concernent particulièrement les zones difficiles à mécaniser. Les prairies de montagne ont évolué en raison de centaines d'années d'activité agricole extensives, qui ont créé et maintenu des habitats ouverts et semi-ouverts qui permettent le maintien d'une activité agricole et d'un tissu rural (Commission Européenne EC CHM, 2001°). Les limitations naturelles de leur rendement potentiel sont dues à la géologie, à l'altitude ou aux caractéristiques climatiques. Leur utilisation décline rapidement en raison de leurs difficultés d'accès et de leur pente.

2. Hypothèses et objectifs généraux du travail

Les expériences destinées à suivre l'évolutions des prairies sous l'effet de l'extensification sont très peu nombreuses : 22 sites expérimentaux ont été répertoriés, dont 14 de type mésotrophique, 4 de type acide et 4 de type calcicole (Marriotta *et al.*, 2004). Parmi ces 22 sites les mesures continuent actuellement sur 8 sites mésotrophiques et un site acide localisé en Angleterre. En France, il n'y a aucun site de mesure en sol acide, en moyenne montagne. Enfin, selon Marriotta *et al.* (2004) aucune des expérimentations sur prairies en sol acide ne comporte de niveaux de fertilisation ou de chaulage. En France, les Pyrénées, les Alpes et le Massif Central comportent de larges zones de prairies potentiellement acides, soumises à une acidification naturelle liée à des précipitations élevées et sur lesquelles on n'a finalement aucune information. Après discussion, il a été proposé de centrer ce travail de thèse sur l'étude de prairies acides des Pyrénées en profitant d'un dispositif expérimental (fertilisation x chaulage) implanté par P. Castillon et Y. Rauzy depuis 1998 sur un site acide des Pyrénées à proximité de prairies déjà étudiées par l'équipe Orphée dans la même petite région (10 km x 10 km). La thèse n'a donc pas l'ambition de représenter statistiquement l'évolution des sols acides et des flores à un niveau plus global. La question posée est celle de la nécessité du chaulage et des intrants dans ces prairies extensives peu productives.

L'hypothèse étudiée est que les graminées présentes dans ces situations acides et peu fertiles sont adaptées à l'acidité et résistent à la toxicité de Al. L'objectif de la thèse est d'évaluer l'impact du complexe acidité – toxicité de Al sur la production de biomasse de la prairie et d'analyser la résistance à la toxicité de l'aluminium des graminées. Cette analyse permettra de comprendre la réponse des prairies et des espèces à la fertilisation et au chaulage.

CHAPITRE I.

BIBLIOGRAPHIE: L'ACIDITE DES

SOLS ET SON INFLUENCE

SUR LES VEGETAUX

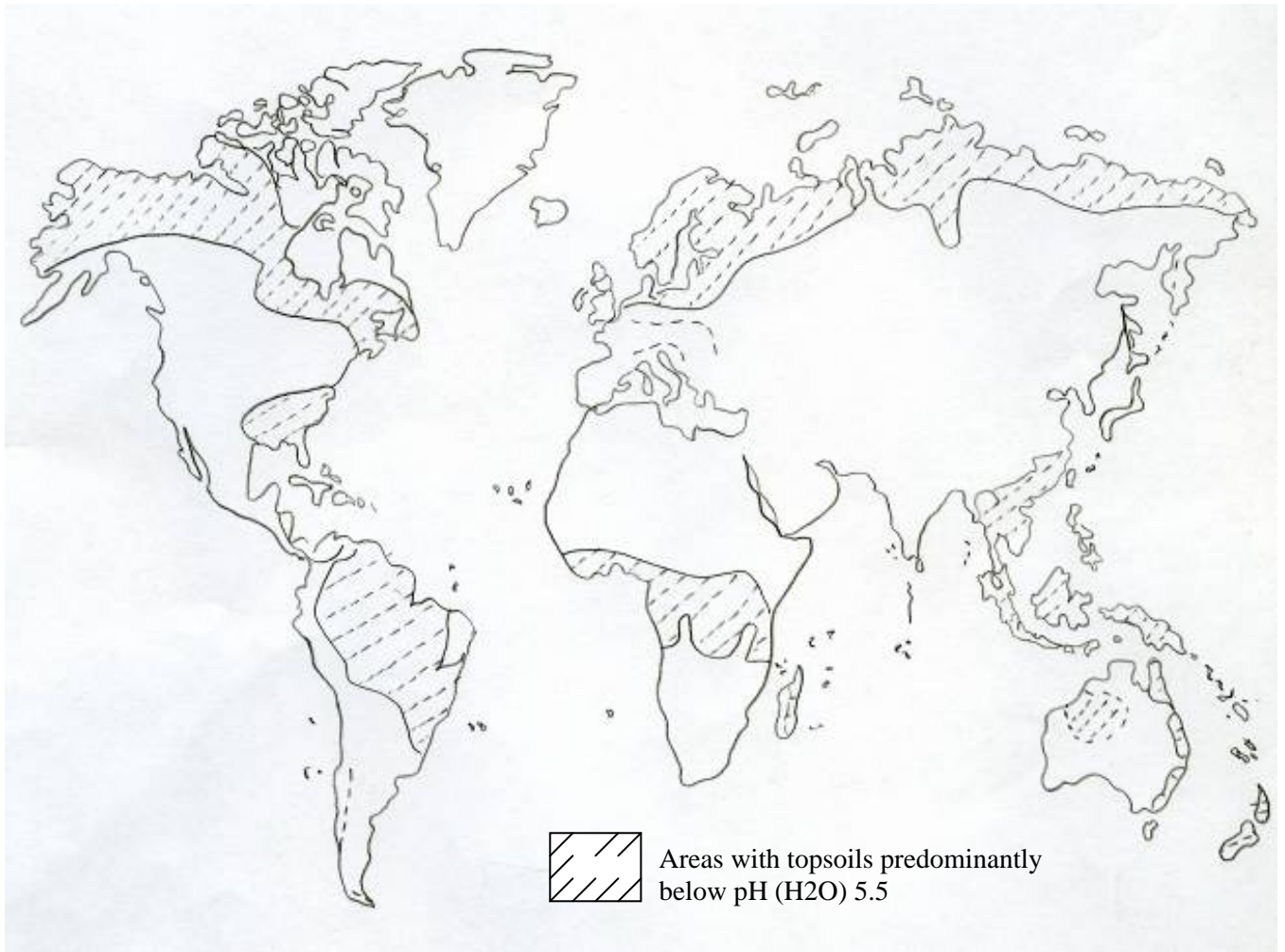


Figure 1: Carte des sols acides en Monde d'après von Uexkull and Mutttert (1995)

Dans cette mise au point bibliographique, l'aspect sol sera d'abord présenté en définissant le contexte, les facteurs de l'acidité du sol, les paramètres de la toxicité des sols acides, les interactions avec certains éléments de la fertilisation et le remède à l'acidité par le chaulage. L'influence de l'acidité sur la végétation prairiale sera ensuite présentée au travers des effets de la faible fertilité et de la toxicité des sols acide sur la sélection des espèces. Le troisième point sera constitué par l'étude de la toxicité de l'aluminium.

1. L'acidité des sols

L'acidité du sol est définie par un pH à l'eau de l'horizon de surface inférieur à 5.5. (von Uexkull and Mutttert, 1995). Les sols acides occupent approximativement 30% (3950 M ha) des terres émergées non couvertes de glace du monde. Ils sont observés dans deux ceintures sur le globe où ils se sont développés sous des régimes d'humidité importante (Classification climatique : régimes udiques ou ustiques). L'acidification des sols se produit dans les zones à forte pluviométrie, supérieure à l'ETP, de l'ordre de 1500 mm. La ceinture nordique, au nord de l'Europe sous climat froid et tempéré a produit des sols acides appelés Spodosols, Alfisols, Inceptisols et Histosols. La ceinture tropicale a produit des sols acides appelés Ultisols et Oxisols. Soixante sept pour cent des sols acides (2646 M ha) supportent des forêts et des régions boisées et approximativement 18% (711 M ha) sont couverts par une végétation de savane, de prairie ou de steppe. Seulement 4.5% (179 M ha) des sols acides sont en zone arable et employés pour des cultures. Les cultures tropicales perennes (thé, café, kiwi...) occupent 33 M d'hectares de sols acides. Le pourcentage d'utilisation des sols acides pour des cultures varie selon les régions : il atteint 10.2% en Europe et 8.6% en Asie. Les problèmes d'acidité sont accentués lorsque la faible rentabilité des cultures empêche l'achat et l'utilisation de la chaux (Scott *et al.* 2000).

1.1 Les sols acides en Europe

L'acidité des sols concerne environ 37 % des sols en Europe (von Uexkull and Mutttert, 1995). L'acidité se développe sous climat humide, en Europe du Nord (Scandinavie, **Figure 1**) et dans les forêts et pâturages des massifs montagneux (Falkengren-Grerup and Tyler, 1993b; Baize and Roque, 1998; Austrheim *et al.*, 2005). Les prairies extensives sont donc une des productions les plus exposées à l'acidité. L'acidité limite la croissance des végétaux, diminue la diversité des espèces prairiales et sélectionne des espèces généralement moins productives (Johnston, 1997). En France, l'information sur l'acidité des sols est inégale et

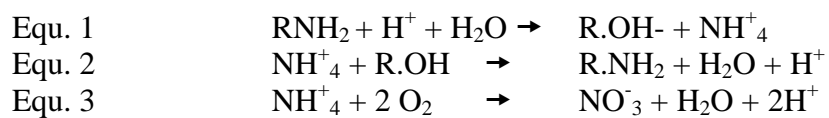
limitée à l'étude de quelques sites sur roches mères siliceuses (Vosges, Bretagne, Alpes,...). Il n'y a pas à notre connaissance de synthèse sur les sols acides de la chaîne des Pyrénées.

1.2 L'acidification

L'acidification est un phénomène naturel qui intervient partout où les précipitations sont supérieures à l'évaporation (Bolan *et al.*, 2003). Elle est favorisée par des causes naturelles (le substrat géologique), par des méthodes de production agricoles (la fertilisation ammoniacale et l'usage intensif des légumineuses) et par des causes artificielles. Il faut tenir compte des échelles de temps et d'espace pour l'acidification et considérer l'éventuel retour de matière organique des feuilles et des tiges qui peut compenser l'acidification initiale liée à l'absorption des cations par la plante (y compris NH_4^+). En système naturel, les entrées du système sont les acides dessous dans les eaux de pluie (CO_2 , NO_x , SO_x). Les sorties sont les lixiviats cations-anions (cations : Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} ; anions : HCO_3^- , SO_4^{2-} , NO_3^-). Dans un système naturel (non modifié ou exploité par l'homme) les plantes transfèrent de l'acidité (H^+) au sol ; cependant, à long terme, le bilan final peut être neutre car à la mort des plantes l'alcanité accumulée dans la plante (principalement les anions organiques R-COO^-) est restituée au milieu. En système cultivé, les engrais dont l'action est généralement faible ou nulle (sels neutres) et les amendements (matière organique, carbonates et hydroxydes de Ca et Mg) s'ajoutent aux entrées du système. Les sorties sont augmentées par l'exportation de la matière organique des plantes par les récoltes (cations minéraux et anions organiques). Plus l'exportation est importante, plus l'acidification est forte. En sol calcaire, tant que le système est tamponné par les carbonates du sol, l'acidification n'est pas perceptible. Dans les sols neutres ou acides, le dépôt acide et l'effet de l'acidification sur des sols et des plantes ont été observés depuis le milieu au 19ème siècle et étudiés dans les eaux de surface (lacs et fleuves), depuis les années 1920 (Erisman et Draaijers, 1995). C'est dans les 25 à 30 dernières années que l'acidification a été perçue comme une question environnementale importante, due au déclin évident des forêts en Scandinavie et Europe centrale (Last, 1991; van Lynden, 1995) et à l'accélération de l'acidification des herbages observée dans les essais de longue durée (Blake *et al.*, 1994).

Les cultures de légumineuses fourragères ont un effet acidifiant du fait de la fixation symbiotique qui produit de 0.2 à 0.7 moles d' H^+ par mole de N fixé, par suite du déséquilibre d'absorption cations – anions (Bolan *et al.*, 2003) et du fait de l'exportation de la matière organique des tiges et feuilles (Bromfield *et al.*, 1983, Mengel et Kirkby 2001, Bolan *et al.* 2003). Les autres processus considérés comme facteurs de l'acidification sont

l'ammonification et la nitrification des composés azotés organiques y compris l'urée qui produisent une mole d' H^+ par mole de N transformé (Equations 1 et 3). Les engrais ammoniacaux produisent de l'acidité par deux processus dans le sol : la nitrification (Equ. 3) et la lixiviation des nitrates. Enfin l'absorption de NH_4^+ par la plante est acidifiante (Equ. 2.).



1.3 Les problèmes nutritionnels des sols acides

Quand le pH du sol est inférieur à 5.5, la concentration en H^+ augmente avec la diminution du pH jusqu'à être toxique (Marschner, 1995 ; Kidd and Proctor, 2001). Chez certaines espèces, l'adaptation aux sols très acides coïncide avec une absorption préférentielle de l'ammonium (Foy, 1988). En culture sur sable avec ajout de solution nutritive, les résultats de Thornton (1997) suggèrent une diminution de l'absorption de l'azote en dessous de pH 4.5 (*Lolium perenne*) ou pH 5.0 (*Deschampsia flexuosa*). Par ailleurs, l'oligoélément molybdène, insoluble à pH acide est moins disponible pour les plantes. Mo est nécessaire à la fixation de l'azote des légumineuses, mais aussi pour la synthèse de protéines en général. L'augmentation de l'acidité augmente la solubilité de Al et Mn et leur toxicité pour la plante. La toxicité directe de Al considérée comme le facteur le plus important dans les sols acides (Foy, 1988) sera développé plus loin (p 22 dans le sol, p 33 dans la plante).

Effets indirects de Al :

Al immobilise le phosphore dans le sol et dans la plante avec pour résultat des symptômes d'insuffisance de phosphore (Marschner, 1995). Chez le soja, l'aluminium à faible concentration stimule l'absorption des nitrates puis l'inhibe à forte concentration ($44\mu M$ {Al} ; Rufty *et al.*, 1995). Chez les graminées, Al diminue l'absorption des nitrates (Calba et Jaillard, 1997). Il semble aussi diminuer l'absorption et la remobilisation de l'azote après défoliation (Thornton, 1997). Quoiqu'il y ait peu de travaux, les sous-sols acides, riches en Al toxique pourraient agir en tant que barrière chimique pour la croissance des racines. Une espèce sensible à la toxicité de Al, aurait ainsi un système racinaire peu profonds et plus susceptible à la sécheresse (Goldman 1975, in Foy 1988). Cette inhibition de la croissance racinaire en sol acide, particulièrement en période sèche, pourrait aussi être liée au manque de Bore, lui-même influencé par le stress hydrique (Lenoble *et al.*, 1996). L'absorption du calcium et du magnésium est limitée par Al (Kinraide, 2003). L'utilisation des engrais azotés à base d'ammonium accélère la baisse du pH et augmente la déficience en Mo et la toxicité de Al et Mn (Malhi *et al.*, 1998).

Enfin, l'activité microbienne ralentit dans les sols avec un pH en-dessous de 4.6 et les champignons et les mycorhizes prennent plus d'importance dans la vie du sol et dans les symbioses (Marschner, 1995). La minéralisation de la matière organique, notamment des formes organiques de N, P et S est affectée. Il en résulte que la fertilité générale naturelle du sol est des prairies acides est nécessairement réduite. Les essais de fertilisation ont prouvé que l'application d'un engrais augmente la productivité de ces prairies et provoque de grands changements de la composition en espèces (Elberse *et al.*, 1983 ; Williams , 1985 ; Mountford *et al.* ; 1993 ; **Tableau 1**).

Tableau 1. Effet moyen des fertilisants (170-40-40 en N P₂O₅ K₂O) sur l'abondance des graminées (%) d'une prairie permanente après 19 ans d'après Williams, 1985. (* P 0.05, ** 0.01, *** 0.001)

| Species | engrais | | |
|-----------------------------------|-------------|-------------|----------------|
| | sans | avec | s.e. |
| <i>Agrostis capillaris</i> | 23.9 | 17.8 | 0.82* |
| <i>Festuca rubra</i> | 27.1 | 14.4 | 2.29* |
| <i>Poa spp.</i> | 3.8 | 20.6 | 1.41** |
| <i>Holcus lanatus</i> | 6.4 | 12.4 | 1.21* |
| <i>Lolium perenne ssp.perenne</i> | 0.6 | 15.9 | 1.61** |
| <i>Dactylis glomerata</i> | 7.4 | 3.6 | 0.80* |
| <i>Alopecurus pratensis</i> | 1.9 | 7.9 | 0.85** |
| Total graminées | 79.9 | 96.0 | 0.67*** |
| <i>Trifolium repens</i> | 3.5 | 2.4 | 0.96NS |
| <i>Luzula campestris</i> | 6.1 | 0.1 | 0.28*** |
| <i>Ranunculus bulbosus</i> | 4.0 | 0.7 | 1.13** |
| Total dicotylédones | 17.0 | 1.5 | 0.85*** |

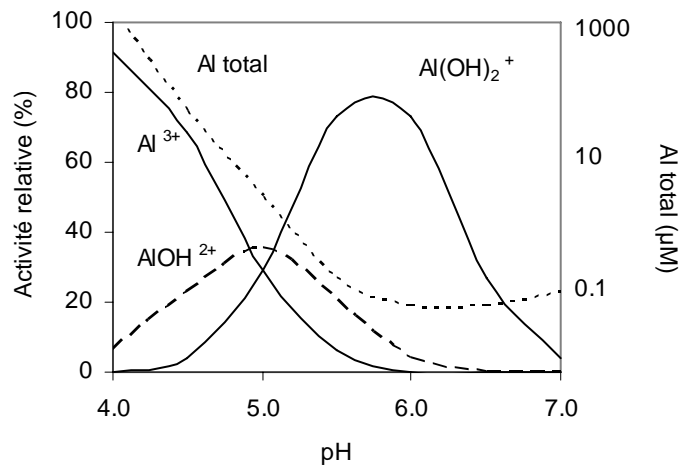


Figure 2. Solubilité de l'aluminium et activités relatives des espèces mononucléaires (Kinraide, 1991)

1.4 Les formes toxiques de Al dans la solution du sol

La physiologie et la toxicité de l'aluminium ont fait l'objet d'une revue récente (Kochian *et al.*, 2005). La toxicité de Al est l'un des principaux facteurs qui limitent la croissance des plantes dans les sols acides (Foy, 1988). Al est issu des minéraux du sol (argiles,...) et solubilisé sous diverses formes en conditions acides (Kinraide, 1991 ; **Figure 2**). La concentration en Al soluble total (Al t) augmente fortement en dessous de pH 5.5.

La principale forme soluble entre pH 4.0 et 4.5 est l'ion mononucléaire $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ noté Al^{3+} (Kinraide, 1991). Entre pH 4.2 et pH 4.5 une forme polynucléaire de Al à 13 atomes de Al, dénommée « Al₁₃ » a été supposée particulièrement toxique (Kinraide, 1991). Quand le pH augmente entre 4.5 et 5.5 les ions $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ puis $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ supposés moins toxiques sont formés. La toxicité réelle de ces différentes formes est encore controversée, mais un consensus semble avoir été trouvé ces dernières années autour de la toxicité de la forme Al^{3+} (Marschner, 1995 ; Kinraide, 2003). La toxicité de Al en solution est mesurée par l'activité chimique de l'ion « Al^{3+} », notée $\{\text{Al}^{3+}\}$. Celle-ci est quasi nulle au dessus de pH 5.5 et croît fortement de pH 5.0 à pH 4.1, dans la gamme 1 - 150 μM (Kinraide, 1991 ; Kinraide 2003). L'activité $\{\text{Al}^{3+}\}$ culmine dans la solution du sol à pH 4.1 et à la surface de la membrane plasmique entre pH 4.1 et 4.8 (Kinraide, 2003). Kinraide a déduit d'essais en solution nutritive que :

- La toxicité de Al doit être plus sévère lorsque le pH du sol est proche de pH 4.1.
- H^+ et Al^{3+} sont des éléments toxiques intrinsèques et, d'autre part, extrinsèques par leur action sur le calcium de la membrane plasmique. Leur compétition les rend améliorateurs extrinsèques vis-à-vis l'un de l'autre.
- L'ion Ca^{2+} et l'ion Mg^{2+} sont des améliorants extrinsèques par déplacement électrostatique de H^+ et Al^{3+} à la surface de la membrane plasmique.
- Ca^{2+} est un améliorant intrinsèque de la toxicité de H^+ mais pas de Al^{3+} .
- Ca^{2+} et Mg^{2+} sont deux facteurs à prendre en compte dans les questions d'adaptation des espèces à l'acidité.

A un pH donné, l'activité de Al dans la solution du sol, varie sous l'influence de la concentration en Ca et Mg (Kinraide, 2003) et de la concentration des ligands de Al^{3+} , notamment les phosphates, sulfates et les acides organiques solubles (Ritchie, 1995). L'activité de Al dans la solution du sol et la toxicité de Al sont donc particulièrement difficiles à prévoir par des paramètres analytiques simples. Dans la plupart des cas, le risque potentiel de toxicité de Al est estimé par la mesure du pH à l'eau du sol et plus rarement de la

concentration en Al échangeable et du rapport Al/Ca (Houdijk *et al.*, 1993 ; Falkengren – Grerup *et al.*, 1995 ; Roem and Berendse, 2000). Un rapport Al/CEC de 0.5 indique généralement une toxicité aluminique potentielle de Al dans les sols tropicaux (Szwarc, 2006 ; Comm. Pers). La concentration en Al dans la solution du sol n'est mesurée qu'occasionnellement, dans des contextes expérimentaux (Curtin et Smillie, 1986 ; Falkengren – Grerup *et al.*, 1995 ; Kidd et Proctor, 2001 ; Kinraide, 2003). La concentration de Al dans la solution du sol peut cependant être insuffisants pour évaluer la toxicité de Al (Calba *et al.*, 2004). En conclusion l'approche de la toxicité de Al par l'analyse de sol est délicate en raison de l'hétérogénéité spatiale et verticale des sols et des difficultés d'extraction d'une solution du sol représentative (Bolan *et al.*, 2003), de mesure de la concentration de Al en solution et de calcul de l'activité de Al dans cette solution. Les informations précises sur la fréquence et l'importance de la toxicité de Al en sol sont donc réduites.

1.5 L'effet des phosphates

L'hypothèse d'un effet des phosphates sur la toxicité de l'aluminium est soutenue par plusieurs travaux depuis ceux de Pierre et Stuart (1933) qui en attribuaient l'effet à la précipitation de Al par les phosphates (in Mc Laughlin et James, 1991). Les phosphates peuvent aussi former des complexes solubles non toxiques (Alva *et al.*, 1986). La précipitation ou l'adsorption de Al par les phosphates, à la surface de la racine ont aussi été envisagées (Mc Cormick et Borden, 1972). L'effet améliorant des phosphates apporté en surface du sol sur la croissance des racines dans les horizons acides en profondeur suggère l'existence d'autres mécanismes comme la redistribution à l'intérieur de la racine du P absorbé en surface (Miranda et Rowell, 1987 ; **Tableau 2**). En cultivant du blé sur une colonne superposant un sol acide chaulé à pH 6.0 (ACh) et le même sol non chaulé (A, pH 3.8) ou chaulé (ACh' pH 5.5), Miranda et Rowell (1987) observent une augmentation modérée de la biomasse de parties aériennes (+ 44 à + 63 % selon la variété de blé) et de la biomasse de racines (+ 17 %) sous l'effet du chaulage du sous sol. Au contraire, l'effet d'un apport de P en surface (ACh P) multiplie par 4 à 5 la biomasse de parties aériennes et par 2 à 4 la biomasse de racines. Cet effet est corrélé à une augmentation de la translocation de P vers les racines du sous sol qui est supposée permettre l'inactivation de Al. Ces auteurs ont conclu que l'alimentation en P pourrait, à elle seule, compenser l'acidité du sous sol. Par ailleurs, ils observent une absorption relative de P par unité de Al absorbé trois fois supérieure chez une variété de blé tolérante à Al, par rapport à une variété sensible. Les conditions de ces essais correspondaient à des teneurs en P du sol et des parties aériennes du blé relativement élevées

Tableau 2. Effet du chaulage et de l'alimentation en P sur la croissance du blé, cultivé sur une colonne constituée de deux couches de sol superposées recalculé d'après de Miranda et Rowell (1987) : pa partie aérienne, r racines

| variétés de blé | paramètre | traitements | | | % d'augmentation due | |
|-------------------|--------------|-------------|------------|--------------|-------------------------|-----------------------------|
| | | ACh / A | ACh / ACh' | ACh P / ACh' | au chaulage du sous-sol | à l'apport de P dans le sol |
| IAC 5 tolérante | poids sec pa | 0.48 | 0.69 | 2.05 | 144 | 427 |
| | poids sec r | 0.19 | 0.23 | 0.43 | 117 | 222 |
| | P % ms pa | 0.12 | 0.18 | 0.59 | 150 | 492 |
| Jupateco sensible | poids sec pa | 0.35 | 0.57 | 1.70 | 163 | 486 |
| | poids sec r | 0.13 | 0.15 | 0.53 | 117 | 408 |
| | P % ms pa | 0.15 | 0.20 | 0.62 | 133 | 413 |

A sol acide pH 3.7 ; ACh le même chaulé à pH 6.0 ; ACh' le même chaulé à pH 5.5 ; AChP = ACh plus enrichissement en P

(P Olsen 128 vs 17 mg. kg⁻¹ dans les traitements ACh P et ACh respectivement ; P 0.6 % ms parties aériennes du blé). Étudié en solution nutritive l'effet n'a pas pu être prouvé (Mc Laughlin et James, 1989). Par contre, en sol, Mc Laughlin et James (1991) ont confirmé l'effet phosphate précédemment observé et démontré qu'il s'exprime par l'intermédiaire de la translocation de P à l'intérieur des racines de la plante, et qu'il n'est pas relié à une précipitation du phosphate d'aluminium sur ou dans la racine. Ces auteurs ont envisagé sans succès différents mécanismes : l'efflux de phosphate racinaire et l'exsudation de HCO₃⁻ ou d'anions organiques. Les résultats peuvent être biaisés par la détermination imparfaite de la concentration en Al et de l'activité de Al ou par l'action des microorganismes de la rhizosphère.

1.6 Le chaulage

L'évaluation des besoins en chaux des sols acides repose sur différentes méthodes. La méthode la plus traditionnelle est d'ajouter assez de chaux pour augmenter le pH jusqu'à une valeur choisie entre pH 6.0 et pH 6.5 (Shoemaker *et al.*, 1961). Les autres approches sont de calculer l'addition de chaux en fonction du niveau d'Al échangeable (Kamprath, 1970) ou du taux de saturation de la CEC (S / T) par les cations échangeables (S= Ca²⁺ + Mg²⁺ + K⁺ + Na⁺; T = S + H⁺ + Al³⁺). Dans ce cas le rapport S/T optimum retenu est de 0.80 pour des prairies pâturées à faible productivité et de 0.90 pour des prairies à forte productivité (Groupe chaulage du COMIFER *in* Le livre blanc MEAC, (2006). Le chaulage, en augmentant le pH, peut doubler la CEC effective du sol ce qui a des conséquences importantes sur les propriétés mécaniques et la dynamique de l'eau. L'effet du chaulage se manifeste par une baisse de la densité apparente du sol (augmentation de la porosité). Ce phénomène améliore les transferts de l'air et de l'eau et induit une meilleure colonisation racinaire (Groupe chaulage du COMIFER *in* Le livre blanc MEAC, 2006).

Le chaulage est une pratique agronomique reconnue dans les sols acides tropicaux, mais aussi en Europe. L'intérêt du chaulage est prouvé pour les espèces de grande culture sensibles à l'acidité (maïs, blé, etc., Marschner *et al.*, 1995). Le chaulage améliore les caractéristiques physiques, chimiques et biologiques du sol. Il a un effet direct sur l'amélioration de l'acidité de sol et sur la diminution de la toxicité de Al. Le chaulage a aussi une influence directe sur la nutrition en Ca (et éventuellement en Mg) et des effets indirects sur la mobilisation des éléments nutritifs (P, Curtin et Smillie, 1986b ; Mo ; Kubota et Allaway, 1972 *in* Mengel et Kirkby, 1987 ; Mengel *et al.*, 2001) et l'immobilisation des métaux toxiques (Bolan *et al.*, 2003).

Le chaulage améliore la structure du sol (Haynes et Naidu, 1998). L'augmentation du pH modifie le ratio bactéries / champignons en faveur des bactéries (Baath *et al.*, 2003). Le chaulage augmente la minéralisation de l'azote (dans un ordre de grandeur de 15 à 42 kg N.ha⁻¹ la première année ; Nyborg et Hoyt, 1978 ; Curtin et Smillie, 1986a, 1986b). Cet effet s'explique par l'augmentation de la biomasse microbienne et l'accélération du cycle de C et N ; il intervient sans modification de la teneur en C ou N du sol (Kemmitt *et al.*, 2006). La question de l'amélioration du taux de matière organique du sol à long terme, qui conditionne de nombreux aspects de la physique et de la chimie du sol reste donc posée. Le chaulage améliore la colonisation par la macrofaune du sol (ver de terre) dans les sols de pâturage testés en laboratoire (Springett et Syers, 1984). Il pourrait améliorer la résistance à la sécheresse des cultures par l'augmentation de la profondeur d'enracinement, en tout cas lorsqu'il y a travail du sol et enfouissement de la chaux.

1.6.1. Particularités du chaulage des prairies

Curtin et Smillie (1986b) montrent que la réponse du ray grass au chaulage en sol très acide est bien due à la levée de la toxicité aluminique. Cependant, les résultats de Curtin et Smillie (1986) ont été obtenus en pots sur des graminées cultivées dans des échantillons de sols de prairie et non en plein champ. En plein champ, le chaulage donne des résultats variables, tantôt positifs, tantôt négatifs ou nuls (Bonischot, 1986 ; Pinto *et al.*, 1995 ; Stevens et Laughlin, 1996 ; Castillon, 1998). Les effets modestes et controversés du chaulage des prairies pourraient apparaître à différents pas de temps (Fabre et Kockmann, 2006). Parmi les publications récentes, les essais de Pinto *et al.* 1995 et Stevens et Laughlin, 1996 peuvent servir d'exemple. Pinto *et al.* (1995) montrent au pays basque que lorsque le chaulage est effectué à l'implantation de la prairie avec travail du sol, en sol acide (pH 4.8, site de Derio), il augmente la biomasse des espèces semées *L. perenne*, *D. glomerata*, *T. repens* de 20 à 42 % pour un témoin à 5.6 t/ha. Cet effet positif peut s'expliquer par : (1) le choix d'espèces sensibles à la toxicité de Al, (2) l'acidité réelle du sol avant chaulage (pH 4.8 ; Al³⁺ échangeable 4.3 meq / 100 g de sol, Al / CEC = 36 %), (3) l'incorporation de l'amendement par travail du sol. Les mêmes auteurs constatent l'absence d'effet chaulage sur la production dans l'essai d'Abadiano (pH 5.6 – Al 0.6 meq/ 100g, Al/CEC = 5.6 %), avec un amendement apporté en surface, sans travail du sol, sur une prairie permanente (*A. tenuis*, *F. rubra*, *H. lanatus*, mais aussi *L. perenne*, *G. fragilis*, *P. lanceolata*, *R. acris*, *T. officinale*, *T. repens*, *T. pratense*). Il est clair que le pH et le niveau de Al échangeable ainsi que la flore sur le site d'Abadiano ne sont pas caractéristiques d'un sol très acide. La flore est aussi susceptible d'être au moins partiellement adaptée à l'acidité et tolérante à Al (*A. tenuis*, *F. rubra*, *H. lanatus*).

La comparaison des deux sites montre que l'effet neutralisant à dose égale d'amendement est en faveur de l'apport avec mélange mécanique à l'horizon de surface (Derio, **Tableau 3**). Le calcul de la valeur neutralisante suggère que l'efficacité de l'épandage en surface à Abadiano est deux fois plus faible.

L'analyse des résultats de Pinto *et al.*, (1995) montre la difficulté d'interprétation d'essais réalisés sur des sols différents avec des flores différentes et la nécessité d'essais plus rigoureux et à plus long terme comme l'expérimentation de Park Grass (Johnston, 1997). Stevens et Laughlin (1996) présentent des résultats analogues sur deux sites de pH compris entre 5.1 et 5.5. Le chaulage apporté en surface amène sur 10 ans une augmentation de 9 % de la biomasse totale (3 coupes) de la prairie permanente à 160 kg N /ha/an et 3 % à 320 kg N / ha / an (**Tableau 4**). Le chaulage avec enfouissement mécanique augmente la biomasse de la prairie resemée de ray grass de 13 % à 7 % selon le niveau de N. Les effets du chaulage sont plus importants (jus qu'à + 20 % et + 28 %) sur la première coupe seule au premier niveau de N. Les auteurs attribuent une partie de l'effet chaulage à une amélioration de la nutrition azotée.

1.6.2. Intérêt économique du chaulage

Stevens et Laughlin (1996) à partir d'un calcul fondé sur le coût d'une fumure azotée produisant le même effet de rendement (**Tableau 4**), concluent que le chaulage a une bonne efficacité économique quelque soit la dose de calcaire broyé entre 4 et 12 t /ha pour un resemis de ray grass réimplanté mécaniquement. Par contre, en prairie permanente, seules les doses faibles (4 à 8 t / ha) sont rentables économiquement et seulement au niveau d'azote de 160 kg N /ha. Dans les prairies permanentes de montagne, peu productives et difficiles d'accès, la rentabilité est probablement encore plus réduite.

2. Influence de l'acidité du sol sur la végétation prairiale

Dans la sélection des espèces des prairies acides deux facteurs explicatifs sont susceptibles d'intervenir plus ou moins simultanément : la faible fertilité des sols acides et la toxicité de H^+ et Al^{3+} .

2.1. Effet de la faible fertilité des sols acides

Pour classifier les facteurs externes qui affectent la végétation il est utile de distinguer deux grandes catégories. La première est le *stress* : manque de lumière, d'eau et d'éléments minéraux, températures sub-optimales. La seconde, désignée sous le nom de *perturbation (disturbance)* est associée à la destruction partielle ou totale de la biomasse de la plante et résulte des activités des herbivores, des microbes pathogènes et des humains et des phénomènes comme les dommages dûs au vent , au givre, à la sécheresse, à l'érosion du sol et au feu.

Tableau 3. Comparaison des effets de doses de scories sur le pH (0 - 5 cm) et la neutralisation des H⁺ dans deux sols du pays basque (recalculé d'après Pinto *et al.*, 1995)

| Sites | paramètres | dose de scories (t/ha) | | valeur neutralisante observée (mM H ⁺ / L) |
|----------|-----------------------|------------------------|------|---|
| | | 0 | 7 | |
| Abadiano | pH | 5.87 | 6.64 | 1.52 |
| | mM H ⁺ / L | 2.82 | 1.31 | |
| Derio | pH | 5.28 | 6.33 | 3.31 |
| | mM H ⁺ / L | 5.09 | 1.78 | |

Tableau 4. Evaluation de l'effet du chaulage en prairie permanente et en resemis de *L. perenne* selon le niveau de fertilisation N recalculé d'après Stevens et Laughlin, (1996)

| N kg / ha | p. permanente | | resemis | |
|--|---------------|-------|---------|-------|
| | 160 | 320 | 160 | 320 |
| biomasse annuelle du témoin (moy. 10 ans) | 9.19 | 13.05 | 9.64 | 14 |
| biomasse annuelle du meilleur traitement chaulé (moyenne sur 10 ans) | 9.99 | 13.43 | 10.86 | 15.04 |
| dose de calcaire broyé optimum (t/ha) | 8 | 8 | 8 | 8 |
| rapport de biomasse chaulé / témoin | 1.09 | 1.03 | 1.13 | 1.07 |
| différence de biomasse t/ha/an | 0.8 | 0.38 | 1.22 | 1.04 |
| différence de biomasse cumulée sur 10 ans (t) | 8.0 | 3.8 | 12.2 | 10.4 |
| besoin d'azote équivalent sur 10 ans (kg) | 332 | 141 | 449 | 385 |
| coût de l'azote (£) | 126 | 53 | 171 | 146 |
| coût du chaulage (£) | 76 | 76 | 76 | 76 |
| différence (£) | 50 | -23 | 95 | 70 |

Le modèle C-S-R (Grime *et al.*, 1986) propose que la végétation qui se développe dans un endroit particulier et à un moment particulier dépende des intensités du stress (contraintes sur la production), de la perturbation (dommages physiques à la végétation) et de la concurrence (la tentative par des plantes voisines de capturer la même unité de la ressource). L'équilibre C-S-R change d'un endroit à l'autre, même au sein d'une même communauté de plantes, et sur des calendriers journalier, saisonniers et successionnels. Pour cette raison, les communautés contiennent souvent des espèces de stratégie largement différente. La faible fertilité devrait favoriser des espèces reconnues comme tolérantes aux stress (S, C-S ; Grime *et al.*, 1986) et des espèces présentant une stratégie de conservation des éléments nutritifs (Poorter et Remkes, 1990 ; Hunt et Cornelissen 1997, Garnier *et al.*, 2001) généralement marquée par : une vitesse de croissance (RGR) faible, des feuilles à teneur en matière sèche élevée (TMS, leaf dry matter content LDMC), à surface spécifique foliaire faible (SSF, specific leaf area SLA). *Festuca rubra*, *Sieglingia decumbens*, *Molinia caerulea* et *Nardus stricta* sont des espèces à stratégie de conservation, fréquentes en sols acides et pauvres, avec des écotypes de type tolérants aux stress (S ou C-S) mais sensibles à la perturbation.

Au contraire, les espèces à caractères intermédiaires (C-S-R) ou de type compétiteur (C, dans la classification de Grime) ne supportent pas le stress et sont caractéristiques des milieux riches. Ces espèces productives à stratégie de capture de la lumière et des nutriments sont moins adaptées aux sols pauvres. Cette classification a été développée et adaptée dans l'équipe Orphée dans une perspective de typologie d'usage des prairies (Ansquer *et al.*, 2004) (**Tableau 5**).

2.2. Effet de l'acidité sur la biodiversité végétale

Dans l'essai de Park Grass (Johnston, 1997), l'acidité du sol réduit la richesse en espèces de 33 (pH 6.4) à 2 (pH 3.4). Le chaulage en évitant l'acidification est donc susceptible de conserver la diversité des espèces mono- et di-cotylédones. Bonischot (1986) note que les prairies les plus productives ont des pH compris entre 6 et 7. Il relève un lien important entre la composition botanique et l'évolution du pH : légumineuses et bonne graminées prairiales sont plus abondantes quand le pH passe de 5,3 à 6,8. Cet effet a été confirmé dans des études plus récentes : le chaulage des prairies permanentes augmente la proportion de *L. perenne* et diminue la proportion d'*Agrostis capillaris* (Stevens et Laughlin, 1996). Le chaulage augmente la proportion d'espèces dicotylédones et de légumineuses (Kopeck, 1997 ; Mora *et al.*, 2002). Le maintien de la biodiversité des prairies est ainsi mis en avant pour justifier la pratique du chaulage (Roem *et al.*, 2002).

Tableau 5. Types de graminées établis sur la base de la teneur en matière sèche des limbes d'après Ansquer *et al.*, (2004).

| | Espèces de type A | Espèces de type B | Espèces de type C | Espèces de type D |
|------------------------------------|--------------------------|------------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| | <i>Holcus lanatus</i> | <i>Anthoxanthum odoratum</i> | <i>Agrostis capillaris</i> | <i>Brachypodium pinnatum</i> |
| | <i>Lolium perenne</i> | <i>Arrhenatherum elatius</i> | <i>Avena pubescens</i> | <i>Briza media</i> |
| | | <i>Dactylis glomerata</i> | <i>Festuca rubra</i> | <i>Cynosurus cristatus</i> |
| | | <i>Festuca arundinacea</i> | <i>Phleum pratense</i> | <i>Deschampsia coespitosa</i> |
| | | <i>Poa trivialis</i> | <i>Trisetum flavescens</i> | <i>Festuca ovina</i> |
| TMS (mg/g) | 194 ± 4 a | 221 ± 3,3 b | 246 ± 3,6 c | 283 ± 29,7 d |
| DVF (degré.jour) | 502 ± 92 a | 795 ± 247 ab | 864 ± 305 ab | 1372 ± 481 b |
| Date "épi à 10 cm" (degré.jour) | 568 ± 57 a | 665 ± 121a | 830 ± 67 ab | 1014 ± 264 b |

Les différences significatives entre groupes, pour un même trait, sont indiquées par des lettres différentes: TMS: p= 0,05; DVF : p = 0,001 cm : p= 0,01.

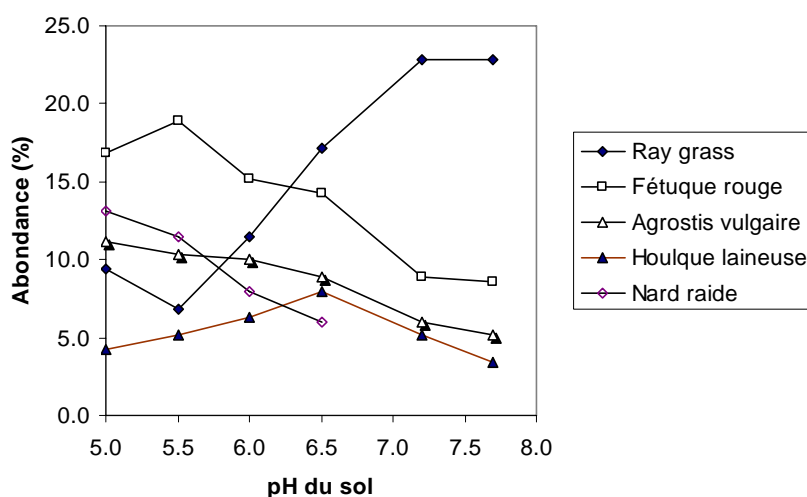


Figure 3. Abondance de différentes espèces selon le pH du sol. (Boeker 1969, 1250 prairies in Bonischot, 1986).

Selon Boeker (1969) *in* Bonischot (1986), l'acidité favorise des graminées de qualité fourragère moyenne ou faible (agrostis, nard, fétuque) et limite les espèces de bonne qualité fourragère et de bonne productivité comme le ray grass (**Figure 3**). Parmi ces espèces on trouve quelques monocotylédones dites « calcifuges », *Carex pillulifera*, *Deschampsia flexuosa*, *Holcus mollis* et *Nardus stricta*. Les graminées *D. flexuosa*, *H. mollis* et *N. stricta* cultivées sur sol calcaire montrent des symptômes d'insuffisance en phosphore (Tyler, 1994). *N. stricta* est aussi limité par Fe. Ces difficultés de nutrition des calcifuges s'expliqueraient par une exsudation insuffisante d'anions organiques di-carboxyliques (malate) et tri-carboxyliques (citrate) en sol calcaire (Tyler et Ström, 1995). En présence d'Al, la stimulation de la synthèse et de l'exsudation des acides organiques par les racines des plantes calcifuges favoriserait la chélation de Al et diminuerait la précipitation des phosphates par Al. Le pouvoir chélatant vis-à-vis de Ca^{2+} et Al^{3+} des molécules organiques exsudées par la racine ou issues de la rhizosphère pourrait être une des clefs de compréhension de ces phénomènes.

Les facteurs sélectifs présentés jusqu'ici comme les plus actifs sont la toxicité de l'ion H^+ (Kidd et Proctor 2001) et celle de Al^{3+} (Clarkson, 1966 ; Snaydon, 1970 *in* Johnston 1997). Dans l'expérience de Park Grass, des écotypes de *A. odoratum* adaptés et non adaptés à l'acidité se sont différenciés en l'espace de 65 ans (Snaydon, 1970). Par ailleurs, l'existence d'écotypes ayant des résistances à l'acidité différente à l'intérieur d'une espèce est suggérée pour *D. glomerata*, *F. rubra* et *H. lanatus* par les histogrammes de fréquence de Grime *et al.* 1986 ; pour *H. lanatus* par les résultats de Kidd et Proctor (2001).

Tableau 6. Occurrence des graminées prairiales en fonction du pH à l'eau des sols

| Espèces et stratégie | Intervalle de pH préféré dans les Asturies selon Antuna <i>et al.</i> 1980 | Intervalle de pH préféré en Angleterre selon Grime <i>et al.</i> , 1986 | Intervalle de pH exclus dans les Asturies selon Antuna <i>et al.</i> 1980 | pH correspondant à % occurrence < 5% selon Grime <i>et al.</i> , 1986 | évidence d'une distribution bimodale des occurrences selon le pH (<i>in</i> Grime <i>et al.</i> , 1986) |
|------------------------------------|--|---|---|---|--|
| <i>Arrhenatherum elatius</i> | Ind. | 5.0 - 8.0 | -- | 3.0 - 4.0 | ? |
| <i>Dactylis glomerata</i> | Ind. | 5.0 - 8.0 | -- | 3.0 - 4.0 | oui |
| <i>Helictotrichon sulcatum</i> --- | -- | -- | (> 7.5 ³) | -- | -- |
| <i>Holcus</i> | Ind. | 4.0 - 8.0 | -- | 3.0 - 4.0 | Oui |
| <i>Agrostis capillaris</i> | 4.0 - 6.0 | 4.0 - 6.0 | 6.5 - 7.7 | | ? |
| <i>Anthoxanthum odoratum</i> | 4.0 - 6.0 | 4.0 - 6.0 | 6.5 - 7.7 | 3.0 - 4.0 7.0 - 8.0 | Non |
| <i>Festuca rubra</i> | 4.0 - 6.0 | 4.0 - 8.0 | 7.0 - 7.6 | 3.0 - 4.0 | Oui |
| <i>Sieglingia decumbens</i> | 5.0 - 6.5 | 4.0 - 6.0 | 6.5 - 7.6 | 3.0 - 4.0 ² 6.0 - 8.0 ² | Non |
| <i>Lolium multiflorum</i> | 5.5 - 6.5 | -- | 4.0 - 5.0 | -- | -- |
| <i>Brachypodium pinnatum</i> | 5.5 - 6.5 | 5.0 - 8.0 | 4.5 - 5.5 | 3.0 - 5.0 ² | Oui |
| <i>Briza media</i> | 5.5 - 7.0 | 5.0 - 8.0 | -- | 3.0 - 5.0 ² | Oui |
| <i>Trisetum flavescens</i> | 6.0 - 6.5 | 6.0 - 8.0 | 4.0 - 5.0 | 3.0 - 5.0 | ? |
| <i>Bromus mollis</i> | 6.0 - 7.0 | -- | 4.0 - 5.5 | -- | -- |
| <i>Lolium perenne</i> | 6.0 - 7.7 | 5.0 - 8.0 | 4.0 - 5.5 | 3.0 - 5.0 | Non |
| <i>Poa trivialis</i> | 6.5 - 7.6 | 5.0 - 8.0 | 4.0 - 6.5 | 3.0 - 5.0 | ? |
| <i>Festuca arundinacea</i> | 6.5 - 7.7 | -- | 4.0 - 6.0 | -- | -- |
| <i>Cynosurus cristatus</i> | (> 6.5 ¹) | 5.0 - 7.5 | -- | 3.0 - 5.0 | ? |
| <i>Gaudinia fragilis</i> | -- | -- | 4.0 - 5.5 | -- | -- |

¹ donnée aberrante dans Antuna (0.1 - 1% CO₃ et pH 4.0 - 5.5)

² % occurrence < à 2 %. ³ Interprétation des données d Antuna *et al.* (< 5% CO₃)

2.3. Exemple de la flore des prairies acides Pyrénéennes

Les graminées des prairies Pyrénéennes les plus abondantes selon Antuna *et al.*, (1980) dans les différents intervalles de pH sont présentées dans le **Tableau 6** et comparées aux observations de Grime *et al.*, (1986). Seul *Agrostis capillaris* est présent avec une occurrence supérieure à 5 % en dessous de pH 4.0. *Anthoxanthum odoratum* et *Festuca rubra* sont bien adaptées aux sols acides avec le même intervalle de pH (4.0 –6.0) dans les deux sources bibliographiques. *Holcus lanatus*, *Sieglingia decumbens* sont adaptées à l'acidité avec de légères différences selon les sources. *Arrhenatherum elatius* et *Dactylis glomerata* semblent présenter un potentiel de résistance au moins dans l'intervalle pH 5.0 – pH 6.0.

Toutes les autres espèces, *Brachypodium pinnatum*, *Lolium multiflorum*, *Briza media*, *Cynosurus cristatus*, *Poa trivialis*, *Lolium perenne* et *Festuca arundinacea*, *Gaudinia fragilis*, *Trisetum flavescens* préfèrent des sols moins acides. Les histogrammes de fréquence de Grime suggèrent l'existence d'écotypes de sensibilité différente pour *B. pinnatum* et *B. media*.

3. Rôle de la résistance à Al dans la sélection des espèces prairiales

Al induit de nombreux effets toxiques sur les différents compartiments cellulaires de la racine (Kochian *et al.*, 2005). La paroi et la membrane plasmique sont rigidifiées, les systèmes de transport d'ions de la membrane plasmique sont altérés, ainsi que la signalisation cellulaire, le cytosquelette, et l'ADN du noyau des cellules de la racine. Ces altérations provoquent dans les racines une rapide diminution de la croissance, un arrêt de la division cellulaire et des déformations caractéristiques. De fait, l'inhibition de la croissance racinaire est depuis longtemps considérée comme un bon indice de la toxicité de Al (Foy *et al.*, 1988). Par son action sur les racines, Al augmente aussi la sensibilité au stress hydrique, à la déficience en N, P, Ca et Mg et conduit à une diminution de la croissance des végétaux.

La résistance à la toxicité de l'aluminium est mesurée par l'activité de Al notée $\{Al^{3+}\}_{50}$ qui conduit à une réduction de 50 % de la biomasse des parties aériennes ou des racines (Wheeler *et al.*, 1992b ; Wheeler, 1995) ou de 50 % de la longueur des racines (Wright *et al.*, 1987 ; Kinraide, 2003). Les différences de résistance des végétaux à la toxicité de Al s'expliquent par des mécanismes d'exclusion de l'Al dans la rhizosphère ou l'apoplasme ou au moment de l'absorption par la membrane plasmique et par des mécanismes de détoxification dans le symplasma. La détoxification de Al dans le symplasma, n'a été observée que chez certaines espèces de Dicotylédones : elle repose sur la complexation de Al

dans les racines et les feuilles par l'oxalate ou le citrate et sur la séquestration de Al dans les vacuoles sous forme d'oxalate (Ma *et al.*, 1998, Shen *et al.*, 2002).

L'exsudation d'anions d'acides organiques dans la rhizosphère est un mécanisme général d'adaptation aux sols calcaires ou acides, à la déficience en P, en Fe et à la toxicité de Al (Jones, 1998) : l'exsudation est continue en raison du gradient de potentiel électrochimique entre les cellules de la racine et la solution du sol et localisée à l'extrémité apicale de la racine. Chez le blé, elle est proportionnelle à la concentration en Al de la solution externe dans le domaine 0-200 μM Al (Ryan *et al.*, 1995). Ce mécanisme d'exclusion par chélation de Al par des carboxylates (principalement citrate, malate et oxalate) exsudés par les apex des racines constitue l'hypothèse la plus détaillée chez les graminées cultivées (Rengel, 2002): exsudation de citrate chez le maïs (Jorge and Arruda, 1997) et de malate chez le blé (Delhaize *et al.*, 1993 ; Li *et al.*, 2000, Sasaki *et al.*, 2004). L'étape clef de l'exsudation serait l'ouverture des pores de la membrane plasmique contrôlée par le gène *ALMT1* permettant une diffusion passive du malate cellulaire (Delhaize *et al.*, 2004).

Les connaissances sont plus limitées chez les graminées sauvages. Toutefois, l'exsudation accrue de citrate chez *Holcus mollis* et de malate chez *Deschampsia flexuosa* en réponse à Al ont été observées (Schöttelndreier *et al.*, 2001). Par ailleurs, il est possible que d'autres mécanismes soient impliqués dans la tolérance à Al chez les graminées, tels que l'augmentation du pH et/ou l'efflux de phosphate à proximité de l'apex racinaire (*Brachiaria decumbens*, Wenzl *et al.*, 2001 ; *Triticum aestivum*, Pellet *et al.*, 1996). La toxicité de Al inhibe l'absorption des anions et particulièrement des nitrates chez les espèces sensibles à Al comme le maïs, ce qui accentue l'acidité et la toxicité potentielle. Des génotypes de maïs résistants à Al seraient capables de maintenir l'absorption des anions et l'alcalinisation correspondante (Calba et Jaillard, 1997 ; Hinsinger *et al.*, 2003).

La variabilité dans la résistance à Al entre graminées s'étend généralement de 1 à 50 μM $\{\text{Al}^{3+}\}_{50}$ (Wenzl *et al.*, 2001) ; la variabilité intra spécifique diffère selon les espèces (ray grass 1 – 4 μM $\{\text{Al}^{3+}\}_{50}$; Edmeades *et al.*, 1991 ; maïs 3-7 ; blé 1-15 μM $\{\text{Al}^{3+}\}_{50}$; Wenzl *et al.*, 2001). Chez les graminées prairiales, un potentiel de variabilité dans la résistance à Al a été observé chez le ray-grass, le dactyle (Wheeler 1992 ; Wheeler 1995), la houlque (Kidd and Proctor, 2001) et les fétuques (Liu *et al.*, 1996). Enfin, la situation est encore compliquée par la présence de symbiotes. Chez les graminées prairiales (*Festuca arundinacea* Schreb., *Festuca pratensis*, *Festuca rubra*, *Lolium perenne*) en situation de déficience en P, la présence d'endophytes améliore la nutrition en P et provoque l'exsudation de composés phénoliques susceptibles de complexer l'aluminium (Malinovski et Beleski, 2000).

L'échelle de résistance observée pour les graminées productives peu présentes dans les sols acides (ray grass $\{Al^{3+}\}_{50}$ 1-4 μM) et pour les graminées moins productives abondantes dans les sols acides (*Agrostis capillaris* $\{Al^{3+}\}_{50} > 30 \mu M$, *Festuca rubra* ($\{Al^{3+}\}_{50}$ 10 - 20 μM ; Wheeler *et al.*, 1992) suggère que la toxicité de Al peut jouer un rôle dans la sélection des espèces de graminées prairiales des sols acides comme l'avaient proposé antérieurement Clarkson (1966) et Davies et Snaydon (1973).

4. Fertilisation des prairies permanentes.

La réponse des prairies permanentes à la fertilisation est rendue complexe par l'absence de travail du sol. Seul l'azote a une réponse équivalente à celle d'une culture classique. Les apports de P et K réalisés en surface, pénètrent peu en profondeur dans le sol. Il en résulte que les sols de prairie sont hétérogènes avec un horizon A, organique, mince (5 cm) et fertile, et un horizon B nettement plus pauvre. La nutrition de la prairie est donc assurée à partir d'un système sol hétérogène. L'influence de cette hétérogénéité est réduite quand le climat est suffisamment humide pour maintenir l'hydratation des horizons A et B. Après être restée longtemps empirique la fertilisation des prairies a changé de statut avec la mise au point du modèle de dilution de l'azote proposé par Lemaire et Salette (1984) et Caloin et Yu (1984). Un raffinement progressif des concepts (Greenwood *et al.*, 1990, Greenwood *et al.*, 1991) a conduit à la définition de la courbe de l'azote critique (N_c % ms) correspondant à une biomasse de parties aériennes MS (t/ha) : $N\% \text{ ms} = a MS^{-b}$ avec $a = 4.8$ et $b = 0.32$ pour *Festuca arundinacea* Schreb (Lemaire et Salette, 1984).

Le modèle permet un diagnostic de la nutrition azotée des prairies tenant compte de l'effet de dilution lié à la croissance de la biomasse jusqu'à la floraison. Le concept de dilution s'étend aux autres éléments mobiles à l'intérieur de la plante notamment P et K. Ces modèles de dilution ont été étendus au diagnostic de la nutrition des prairies permanentes de montagne (Duru, 1992a, b ; Duru *et al.*, 1993). Enfin, Duru et Thellier-Huché (1997) ont établi des régressions reliant directement l'évolution de P et K à celle de N pour les prairies, permettant le calcul des indices de nutrition en P et en K (IP, IK) utilisés dans ce travail.

5. CONCLUSION ET OBJECTIFS DU TRAVAIL

Les prairies permanentes sont porteuses à la fois de valeurs écologiques comme éléments du paysage et de la biodiversité et de valeurs agronomiques, au travers de productions de qualité (fromage, viande). La plupart des prairies permanentes sont liées à des climats humides, sous lesquels l'acidification est un processus naturel et inéluctable. Malgré cela, il y a peu de travaux sur les prairies en sol acide et sur le développement de l'acidification. De même, la réponse des espèces prairiales naturelles des sols acides est assez mal connue ; seules quelques espèces ont été étudiées de façon plus détaillée, *H. lanatus*, *F. rubra*, *D. flexuosa*, *A. capillaris*. De nombreuses autres espèces ont été peu étudiées ou font l'objet de résultats divergents ou contradictoires : *A. odoratum*, *B. pinnatum*, *B. sylvaticum*, *B. media*, *C. cristatus*, *D. glomerata*, *S. decumbens*, *Nardus stricta*, *F. eskia*.

La faible fertilité des sols acides et la toxicité de Al^{3+} peuvent contribuer plus ou moins simultanément à la sélection des espèces prairiales. Cette simultanéité complique l'interprétation des résultats dans les sols faiblement acide (pH 5.0 – 5.5). L'acidité du sol diminue la richesse en espèces et favorise des graminées de qualité fourragère moyenne ou faible comme l'agrostis, le nard et la fétuque rouge; elle limite les espèces de bonne qualité fourragère et de bonne productivité comme le ray grass. Une bonne appréciation de la toxicité de Al demanderait une mesure de la concentration de Al dans la solution du sol. Celle-ci étant difficile à extraire et à mesurer sous tous ses aspects (minéraux et substances organiques, chélates et complexant de Al), les informations précises sur la fréquence et l'importance de la toxicité de Al dans les prairies sont très réduites.

La revue bibliographique a montré que la pratique du chaulage est peu fondée pour les prairies extensives, non semées. Elle a aussi montré la difficulté d'interprétation d'essais réalisés sur des sols différents avec des flores différentes et la nécessité d'essais plus rigoureux et à plus long terme comme l'expérimentation de Park Grass. En prairie permanente, à des niveaux de fertilisation azotée de l'ordre de 160 kg /ha /an, il semble que seules les doses de calcaire relativement faibles (4 à 8 t / ha) soient rentables économiquement. La diversité des résultats de chaulage publiés suggère qu'il est utile de vérifier ces effets dans d'autres conditions acides et de réévaluer leur intérêt économique.

L'acidification ne peut être limitée qu'en diminuant les entrées acides (urée, ammonium), en sélectionnant des espèces résistantes ou moins acidifiantes et en chaulant si nécessaire. L'identification des espèces résistantes à Al dans une prairie est donc un passage nécessaire

pour l'amélioration du diagnostic des situations à risque de toxicité aluminique et pour l'identification d'une situation de végétation adaptée et peut être peu réactive.

Pour conserver la biodiversité des prairies, la fertilisation et le chaulage sont des facteurs à optimiser simultanément, car la fertilisation azotée et l'acidité ajoutent leurs effets pour diminuer le nombre d'espèces. Enfin, un objectif régional peut être d'améliorer les connaissances sur les prairies acides des Pyrénées.

Les principales techniques employées dans cette thèse seront présentées dans le chapitre 2 Matériel et méthodes. Dans un premier temps (Chapitre 3.1) les caractéristiques de croissance (RGR) et de réponse à l'azote des espèces de sol acide seront précisées en phytotron, en solution nutritive, car ces différences sont susceptibles d'être une cause déterminante de la distribution des espèces au travers du gradient de fertilité créé par l'acidité : les espèces des sols acides et peu fertiles devraient avoir une vitesse de croissance et une réponse à l'azote moins élevée que des espèces des situations fertiles. Ces résultats seront complétés par l'analyse des traits foliaires de ces mêmes espèces, mesurés en phytotron et en plein champ.

Dans le chapitre 3.2, la réponse au chaulage globale (pluri-espèces) d'une prairie acide sera analysée, au moyen des résultats d'un essai de plein champ piloté par Pierre Castillon (Arvalis) et Yves Rauzy (Chambre d'Agriculture de l'Ariège). La biomasse totale et l'abondance des espèces seront présentées. Dans le chapitre 3.3, la réponse de chacune des espèces sera détaillée au moyen d'un dispositif de culture en pot sur du sol prélevé dans le même site.

Enfin, le chapitre 3.4, présentera une synthèse des différents aspects de l'adaptation des graminées à un sol acide en tenant compte de la résistance à l'aluminium de différentes graminées, mesurée en phytotron sur solution nutritive.

Chapitre II.

Matériel et méthodes

1. Typologie des graminées prairiales des prairies acides et pauvres

L'objectif de cette étude d'agroécologie est d'évaluer la correspondance entre l'adaptation à un habitat (sols acides et peu fertiles) et les traits fonctionnels des graminées

1.1. Matériel végétal

Le choix des graminées s'explique par le fait qu'elles représentent au moins 50 % des espèces présentes dans les prairies acides et pauvres. Elles sont aussi le principal objet d'études de l'équipe Orphée. Enfin, des collectes de semences avaient été faites par l'équipe Orphée dans les prairies des Pyrénées (Al Haj Khaled *et al.*, 2005, **Annexe 2**) et des semences étaient disponibles pour les espèces: *Agrostis capillaris* (Ac), *Anthoxanthum odoratum* (Ao), *Arrhenatherum elatius* (Ae), *Brachypodium pinnatum* (Bp), *Brachypodium sylvaticum* (Bs), *Briza media* (Bm), *Cynosurus cristatus* (Cc), *Dactylis glomerata* (Dg), *Festuca ezkia* (Fe), *Festuca rubra* (Fr), *Helictotrichon sulcatum* (Gay) Pilger (Hs), *Holcus lanatus* (Hl), *Lolium perenne* (Lp), *Molinia caerulea* (Mc), *Nardus stricta* (Ns), *Sieglingia decumbens* (Sd). Un ray grass cultivé *Lolium perenne* cv Clerpin (Lpc) a été utilisé comme témoin. La fétuque rouge appartient à un complexe d'espèces. Selon les éléments de taxonomie de Portal et les études d'une large collection d'écotypes de fétuque rouge françaises conduites par Sampoux (2006), il est vraisemblable que la population de fétuque rouge soit une fétuque gazonnante hexaploïde *Festuca rubra* ssp *commutata*.

Les espèces ont été récoltées en différents sites de la vallée d'Ercé (**Annexe 2**). Chaque espèce a été récoltée sur un site (excepté la Houlque, deux sites). Les semences ont été récoltées sur plusieurs plantes, en général sur une surface de 50 à 100 m². Les semences collectées en 2003, ont été conservées au sec, puis au réfrigérateur, avant usage.

1.2. Conditions de culture

Les semences ont été désinfectées, vernalisées, puis mises à germer pendant une ou deux semaines, selon les espèces, sur papier filtre, en boîte de Pétri. Après germination, 27 plantes uniformes de chaque espèce ont été sélectionnées et repiquées sur des unités expérimentales constituées par un bouchon de polystyrène de 8 cm de diamètre, taré, portant trois plantes. Les 9 unités disponibles pour chaque espèce ont été cultivées sur solution nutritive complète dans une chambre de croissance climatisée avec les conditions suivantes : jour 14 h, densité de flux de photons à hauteur de plante 260 $\mu\text{moles.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (PAR photosynthetically active radiation), température 25 °C, humidité relative voisine de 70 %; nuit 10 h, température 18 °C.

Encart 1**Les traits foliaires et les variables liées à la croissance des plantes. Le point sur leur signification.**

Le SLA (specific leaf area) ou SSF (surface spécifique foliaire) représente la surface de capteurs de lumière déployée par unité de biomasse sèche allouée aux feuilles. Elle est estimée par le **ratio surface / matière sèche d'une feuille**. Le SLA informe principalement sur la stratégie d'allocation des ressources et traduit le « taux de retour sur investissement » de la population évalué en termes de gestion des nutriments. Autrement dit, un fort SLA assure un retour sur investissement (une acquisition de carbone) rapide des nutriments investis dans la construction des tissus foliaires. Wilson *et al.* (1999) rappellent que le SLA est souvent considéré comme le meilleur indicateur des conditions de capture et d'utilisation des ressources par les plantes. Enfin, Weiher *et al.* (1999) mentionnent que la SSF peut être considérée comme un indicateur de la compétitivité des espèces végétales et de la fertilité de leur habitat naturel. En effet, dans les milieux riches un relative growth rate (RGR) se traduirait par un SLA fort (Poorter 1990). De nombreux résultats concordants entre différences de SLA obtenues en laboratoire et sur le terrain corroborent cette hypothèse (Poorter and De Jong 1999).

La variance du SLA semble relativement importante aussi bien au niveau intra qu'inter-individu. Cette constatation est à rapprocher de celle sur la faible robustesse des classements établis à partir de ce trait. Au-delà, des phénomènes de plasticité et de variabilité génétique, les erreurs liées aux difficultés et aux instruments de mesure de la surface semblent jouer un rôle prédominant sur cette variance (Wilson *et al.* 1999, Garnier *et al.* 2001a, Westoby 1998).

La teneur en matière sèche (TMS ou LDMC pour Leaf Dry Matter Content) est le ratio des poids matière sèche d'une feuille et sa matière verte saturée en eau. C'est un trait foliaire très largement utilisé dans le cadre des travaux sur les traits de vie. Par contre, son interprétation fonctionnelle est moins développée que celle du SLA dans la littérature scientifique.

Comme la masse fraîche à saturation en eau des feuilles est fortement corrélée avec le volume de cet organe, la TMS est une expression de la densité des tissus (Wilson *et al.* 1999). Ryser (1996) mentionne que cette densité est une contrainte qui interdit la maximisation concomitante de l'absorption et de la conservation des nutriments. De leur côté, Meziane and Shipley (1999) ont montré qu'il existait une covariation entre l'épaisseur de mésophylle et la teneur en eau et ce, quelles que soient les conditions de nutrition et l'intensité du rayonnement. Meziane and Shipley (1999) ont également constaté que la teneur en eau diminue avec l'augmentation de l'intensité du rayonnement et augmente avec le niveau de nutrition. La TMS serait un meilleur indicateur de l'utilisation des ressources (Wilson *et al.* 1999) que le SLA. Ryser and Lambers (1995) constatent que la faible densité des tissus du *Dactylis glomerata* est le principal trait responsable de la croissance rapide de cette espèce. En effet, la TMS renseigne sur l'état de conservation des ressources et permet d'évaluer le temps moyen de résidence des ressources dans la plante (Eckstein *et al.* 1999).

Par ailleurs, Wilson *et al.* (1999) signifient l'intérêt de la TMS comme traits aux qualités complémentaires du SLA puisqu'elle ne dépend pas de l'épaisseur et ne nécessite pas de mesure de surface.

L'épaisseur de la feuille : Sa facilité d'estimation nous a conduits à l'utiliser dans nos analyses. Garnier *et al.* (1999) ont montré que le volume des feuilles était très fortement corrélé, avec une relation de 1/1, à leur masse fraîche à saturation en eau. Ce constat permet alors d'évaluer l'épaisseur des feuilles par le ratio masse fraîche à saturation en eau / surface d'une feuille. Ils ont également montré que les taux d'assimilation de CO₂ par unité de surface et par unité de masse fraîche de feuille étaient corrélés respectivement positivement et négativement avec l'épaisseur. Ces résultats montrent que l'épaisseur des feuilles a un important effet sur l'assimilation du CO₂ pour les graminées étudiées.

Le RGR : est une mesure de l'efficacité de la croissance d'une plante. C'est le taux auquel une quantité donnée de biomasse préexistante produit une nouvelle quantité de masse dans un temps donné (Shipley, 2000). Il peut être décomposé en deux termes, l'un morphogénétique ou **LAR** (Leaf Area Rate qui représente la capacité de la plante à investir dans les organes foliaires = m² par kg de poids sec de la plante), l'autre métabolique ou **NAR** (Net Assimilation Rate qui représente l'efficacité métabolique de l'assimilation du CO₂). Le RGR max d'une espèce peut être obtenu en condition de croissance non limitant et durant la phase purement exponentielle de la croissance, c'est-à-dire à des poids correspondants au stade de petite plantule (quelques centaines de mg de matière sèche).

1.3 Solution nutritive

La solution nutritive a été composée comme suit (μM): 450 NO_3 , 150 NH_4 , 800 Ca, 200 Mg, 350 K, 50 P, 1000 S, 6 B, 5 Fe, 1 Zn, 1 Mn, 0.1 Cu, 0.1 Mo. La solution a été renouvelée tous les 10 jours. Les bacs de 48 L étaient couverts d'une feuille de styrofoam trouée pour recevoir les bouchons des unités expérimentales et aérés par bullage. Le taux de croissance relatif (RGR) d'une plante est généralement établi par prélèvements successifs dans une population cultivée en environnement contrôlé sans facteurs limitant (Evans, 1972). La croissance relative (RGR) a été mesurée par une méthode basée sur le poids frais des plantes adaptée de Causton (1991). Chaque bouchon de 3 plantes a été enlevé, séché au papier filtre, pesé, puis replacé sur la solution. Par ce moyen, le poids frais de chaque unité a pu être suivi tout au long de l'expérience. Soit t_i la date de mesure, W_i le poids frais mesuré, la vitesse de croissance (RGR) a été calculée comme suit:

$$\text{RGR} = (\ln W_2 - \ln W_1) / (t_2 - t_1)$$

Comme les espèces différaient par leur vitesse de croissance, le RGR a été calculé sur des périodes où elles présentaient le même intervalle de poids sec (entre 100 et 450 mg poids sec par plante) et donnaient le RGR maximum. Les valeurs sont les moyennes de 3 répétitions indépendantes excepté pour *H. sulcatum* (2 répétitions).

1.4. Mesure des traits foliaires

Les traits foliaires (**Encart 1**) ne sont pas habituellement mesurés en phytotron, car ils sont influencés par les conditions de croissance, notamment une lumière insuffisante par rapport à l'extérieur. Il a cependant paru intéressant de mesurer les traits foliaires dans ces conditions particulières, l'hypothèse étant que le classement des espèces pour les traits foliaires serait éventuellement conservé. Les unités expérimentales (bouchon de 3 plantes) prélevées ont été transférées 12 h avant la mesure sur solution nutritive, en chambre froide et à l'obscurité de façon à assurer une réhydratation par les racines. La teneur en matière sèche foliaire (TMSF $\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$), la surface spécifique foliaire (SSF $\text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1} \text{ms}$) ont été mesurées sur l'ensemble des limbes de chaque plante. La TMS mesurée sur le reste des parties aériennes, après ablation des limbes foliaires a été notée TMSG (TMS des gaines). La TMS des racines (TMSR) a été mesurée sur les racines après essuyage de l'eau superficielle entre deux feuilles de papier filtre. L'épaisseur moyenne des feuilles (EP) a été calculée à partir de SSF et de TMS selon Vile *et al.* (2005): $EP = 10^6 / (\text{SSF} \times \text{TMS})$. Les mesures sont la moyenne de 3 répétitions indépendantes de 3 plantes. Toutes les pesées sont réalisées à l'aide d'une balance de précision (Sartorius BP210S) à 0.1mg.

1.5. Réponse au manque d'azote

Les graminées testées ont été soumises à un manque d'azote appliqué lorsque les plantes présentaient un poids sec voisin de 250 mg. Les plantes ont été transplantées sur un milieu nutritif sans azote, pendant onze jours et comparées aux témoins (3 répétitions).

1.5.1. Variables mesurées à la récolte

Le poids frais des tiges, des feuilles et des racines a été mesuré à la récolte. Les mesures de surface foliaire ont été réalisées avec un planimètre optique LI 3000. Sur les espèces à feuilles cylindrique ou en v, les mesures ont été difficiles et ont pu être biaisées par un manque de sensibilité de l'appareil. Les échantillons ont été séchés à l'étuve à 80 °C (48h). Les échantillons de feuilles ont été broyés et analysés. Les teneurs en N total ont été mesurés à l'aide d'un CHN 2000 analyseur (Lecco, St Joseph, USA). Les teneurs en P total ont été mesurés après digestion dans l'acide sulfurique par la méthode de Murphy et Ryley (1962).

1.5.2. Variables physiologiques calculées

L'indice foliaire par unité de matière sèche (LAR leaf area ratio, $m^2 \cdot kg^{-1} ms$) a été calculé à partir de la surface foliaire par plante et du poids sec total par plante. La vitesse d'assimilation nette (NAR net assimilation rate $g \cdot m^{-2} j^{-1}$) a été calculée à partir du RGR : $NAR = RGR / LAR$ (Poorter et Remkes, 1990)

1.6. Analyse statistique

Les relations entre deux variables ont été représentées par le coefficient de corrélation linéaire r de Pearson et, éventuellement, par le coefficient de corrélation de rang de Spearman. Les relations entre plusieurs variables ont été étudiées par l'analyse en composantes principales (ACP) effectuée sur la matrice des corrélations. Les espèces ont été regroupés à l'aide d'un arbre hiérarchique en utilisant la méthode de Ward. Les calculs ont été faits à l'aide du logiciel R 1.9.0 (Ihaka and Gentleman, 1996).

La comparaison des traitements témoins et carence en azote a été réalisée par l'analyse de variance à 2 facteurs en utilisant le logiciel StatBox sur les données brutes ou sur les données transformées (Log). Les résultats significatifs correspondent à $P 0.05$. Le nard (*Ns*) de croissance comparable au gispet (*Fe*), a donné des résultats très variables dans le traitement carencé en N et n'a pas été inclus dans les analyses de variance. *H. sulcatum* (2 répétitions) n'est pas inclus dans la plupart des tableaux présentés.

2. Réponse au chaulage et aux engrais : essai de plein champ

2.1. Localisation, historique de la conduite et dispositif d'essai

L'essai a été mis en place en 1998 par Yves Rauzy (Chambre d'Agriculture de l'Ariège) et Pierre Castillon, ingénieur Arvalis. L'essai est localisé sur la commune de Massat (1° 19' E, 42° 54' N, 640 m a.s.l.), sur une parcelle à forte pente (~ 20 %, exposition Ouest) à 700 m d'altitude. Ce niveau est considéré comme étant l'étage collinéen, avec une végétation naturelle de chênes et chataîgners. L'essai est répété sur trois blocs. Chaque répétition est constituée par une parcelle de 5 m × 2 m dont la partie utile est de 5 m x 1.38m (**Photos 1 et 2 – Annexe 3**).

L'essai a été installé en 1998 avec 6 traitements comportant des variantes de nature du traitement de chaulage (CaO, CaSO₄, CaCO₃) et deux niveaux de fertilisation (0 et NPK ; **Tableau 7**). Le traitement témoin (qui ne subit aucun chaulage ni fertilisation) a été suivi à partir de 2002. Sur les traitements fertilisés, la fertilisation PK (60-80 P₂O₅, 150-200 K₂O) est stabilisée depuis 2002 à 80 unités P₂O₅ et 200 unités K₂O. La fertilisation azotée est réalisée chaque année, avec quelques petites variations dans la période des apports ou dans les quantités apportées.

Le chaulage a été réalisé en trois apports réalisés en octobre 1998, janvier 2000 et 2002 pour un total de 200 kmolc ha⁻¹. Trois formes ont été utilisées : CaO, CaCO₃ et le mélange CaCO₃, CaSO₄. Le traitement CaSO₄ repose sur la détoxification de Al par les ions sulfates (Wright *et al.*, 1989). Cet effet est supposé pouvoir intervenir en profondeur, du fait de la mobilité des ions sulfates dans le profil. Le traitement CaCO₃ est le seul pour lequel le dispositif permet de comparer par analyse de variance l'effet de CaCO₃ seul et de CaCO₃ + NPK.

En définitive les traitements qui ont fait l'objet d'une étude plus approfondie sont : témoin, témoin + NPK, CaCO₃, CaCO₃ + NPK. Ils sont analysés dans un dispositif factoriel à 2 facteur (fertilisation – chaulage) chacun à deux niveaux (avec et sans) avec 3 répétitions en bloc. Les parcelles 0 et 3 (T et CaCO₃ + NPK) bloc II (**Figure 4**) ont du être éliminées dans certaines analyses car l'ombrage d'un petit bois situé à droite de l'essai influence la surface foliaire.

2.2. Climat

Le climat de Massat est très humide avec des précipitations voisines de 1000 mm en année normale (2004, 2006) et une température moyenne annuelle de 9-10 ° C (**Figure 5**). En 2005, année particulièrement sèche, les précipitations ont été réduites à 372 mm provoquant une sécheresse très marquée.

Tableau 7. Les traitements de l'essai de Massat. CaO, CaCO₃, CaCO₃+ Ca SO₄ = 200 kmolc. ha⁻¹ au total, NPK= 140-160 N, 60-80 P₂O₅, 150-200 K₂O annuels, selon l'année)

| Traitement | kmolc. | | | | |
|---|------------------|-----|-------------------|-------------------|-------|
| | ha ⁻¹ | CaO | CaCO ₃ | CaSO ₄ | NPK |
| 0 Témoin | 0 | | | | 0 |
| 1. NPK | 0 | | | | N P K |
| 2 CaO + NPK | 200 | 100 | | | N P K |
| 3 CaCO ₃ + NPK | 200 | | 100 | | N P K |
| 4 CaSO ₄ /CO ₃ +NPK | 200 | | 34 | 66 | N P K |
| 5 CaCO ₃ /SO ₄ +NPK | 200 | | 66 | 34 | N P K |
| 6 CaCO ₃ | 200 | | 100 | | 0 |

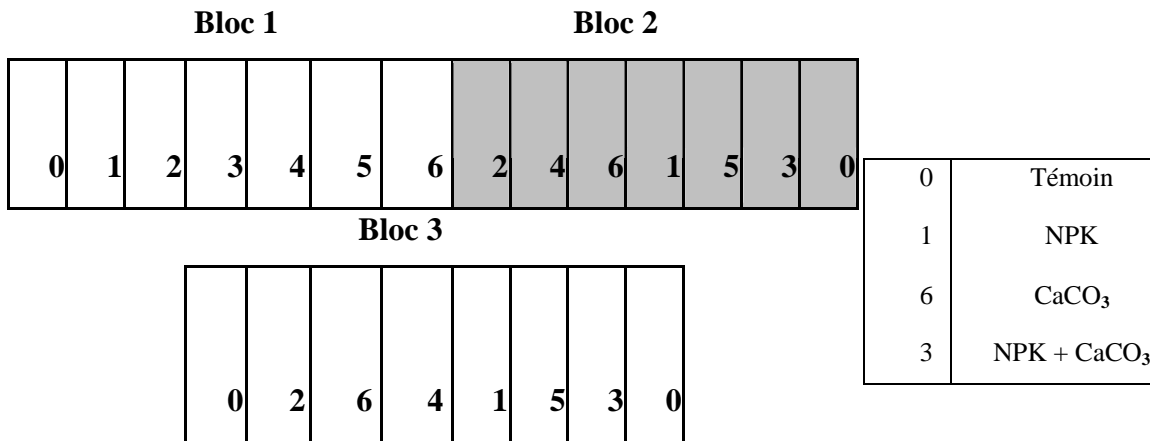


Figure 4. Plan de l'essai de Massat. Les traitements sont définis dans le tableau 1

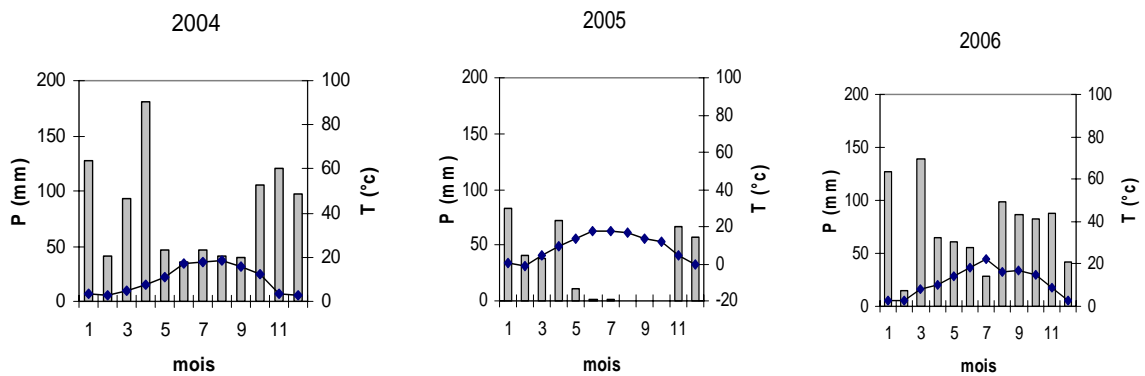


Figure 5. Diagrammes ombro-thermiques des années 2004 (P 976 mm T 9.7 °C) - 2005 (P = 372 mm, T 9.1 °C) et 2006 (P 887 mm, T 11.6 °C)

2.3. Sol

Le sol est un sol brun altéré, sur roche mère de grès siliceux. La profondeur maximum du sol atteint 90 cm. Cependant, les observations faites montrent peu de racines au delà de 55 cm. Les caractéristiques principales de ce sol sont un pH eau faible (4.9), une forte teneur en matière organique (8 %) dans l'horizon de surface, une CEC de l'ordre de 10 – 15 cmol+.kg⁻¹ et une teneur élevée d'Al échangeable (**Tableaux 8 et 9**). Les teneurs en Al échangeable de 3 à 8 cmol+.kg⁻¹ sont comparables à celles citées par Curtin et Smillie (1986) pour les sols avec toxicité aluminique de Curragh et Deer Park (2.8 – 7.2 cmol+.kg⁻¹). La trace d'un chaulage ancien est évidente dans l'horizon supérieur, un peu moins acide qu'en profondeur, avec moins d'Al échangeable.

2.4. La composition botanique

Afin de préciser la composition botanique de l'essai, l'abondance des graminées a été mesurée en 2004 selon la méthode dite des points quadrats (Daget & Poissonet, 1971). Pratiquement, dans les conditions climatiques (sous influence océanique) de la France, la liste floristique des stations prairiales s'établit habituellement en prospectant une aire échantillon de 16 m² (Gordon *et al.*, 1968). Lorsque la végétation est assez haute (25 cm), on utilise la technique de la baïonnette. On plante verticalement dans le sol une tige métallique à intervalles réguliers (20 cm), le long d'une ligne matérialisée par un décamètre qui traverse la parcelle en position centrale (autant que possible). Les mesures sont alors faites sur 5 lignes de 4 mètres de longueur disposées parallèlement. Ces mesures consistent alors à noter la présence ou l'absence de chaque espèce touchant la baïonnette

Exemple de calcul:

L'espèce *Agrostis vulgaris* a été rencontrée 1058 fois sur 2400 observation de présence (toutes espèces végétales confondues), sa fréquence spécifique est 1058 et sa fréquence centésimale $(1058 / 2400) \times 100 = 44\%$

Pour l'essai de Massat dont les parcelles sont plus petites (surface utile 7 m²), les calculs sont réalisés à partir de 35 points d'observations. Les résultats sont ensuite exprimés en pourcentage de l'abondance des graminées.

2.5. *Biomasse* - La production de fourrage est présentée pour la période 2002 - 2006. La biomasse produite a été mesurée par prélèvement à la faucheuse (largeur 1.38 m) sur toute la longueur des parcelles (5m). Suivant les années (plus ou moins productives) une ou deux fauches ont été réalisées, la première en juillet et la seconde en septembre, sur chaque

Tableau 8. Analyse granulométrique et caractéristiques principales du sol de l'essai de Massat (horizons: A = 0-5 cm, B = 5-10 cm, C = 10-20 cm). Les valeurs correspondent aux mesures de 1998 sauf exception (Données de P. Castillon)

| | % argile | % LF | % LG | %SF | %SG | pH eau | | CEC | | MO % 2005 | P ₂ O ₅ Olsen ppm | Al ech. | |
|----------|----------|------|------|------|------|--------|------|----------------------------------|--------------|--------------|---|---------------------------------|---------------------------------|
| | | | | | | 1998 | 2004 | Metson cmol+ kg ⁻¹ | MO % 1998 | | | (mg. kg ⁻¹) 1998 | (mg. kg ⁻¹) 2002 |
| A | 20 | 19.6 | 19.0 | 11.8 | 26.1 | 6.0 | 5.9 | 12.3 | 3.37 | 8.00 | 33.8 | 50 | 750 |
| B | 29 | 21.8 | 18.8 | 15.3 | 12.2 | 4.9 | 4.9 | 14.6 | 2.54 | 3.80 | 17.9 | 670 | 870 |
| C | 36 | 23.5 | 17.8 | 17.1 | 3.8 | 4.9 | 4.9 | 17.9 | 1.76 | 2.48 | 8.7 | 850 | 1030 |

Tableau 9. CEC et éléments échangeables mesurés à la cobaltihexamine (Orsini et Remy, 1976). (Analyses CIRAD 2004 ; horizons: A = 0-5 cm, B = 5-10 cm, C = 10-20 cm)

| Horizons | | Témoin | | | NPK | | | CaCO ₃ NPK | | | CaCO ₃ | | |
|---------------|---------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------------------|-------|-------|-------------------|-------|-------|
| | | A | B | T0 C | A | B | C | T3 A | T3 B | T3 C | T6 A | T6 B | T6 C |
| Ca éch | me/100g | 4,29 | 1,93 | 1,29 | 2,86 | 1,43 | 1,4 | 19,68 | 4,48 | 2,18 | 20,06 | 5,83 | 1,46 |
| Mg éch | me/100g | 1,13 | 0,45 | 0,32 | 0,43 | 0,23 | 0,25 | 0,43 | 0,21 | 0,22 | 0,7 | 0,4 | 0,29 |
| K éch | me/100g | 0,74 | 0,37 | 0,46 | 0,66 | 0,45 | 0,45 | 0,8 | 0,41 | 0,28 | 0,77 | 0,37 | 0,29 |
| Na éch | me/100g | 0,1 | 0,06 | 0,06 | 0,08 | 0,05 | 0,06 | 0,09 | 0,06 | 0,05 | 0,1 | 0,07 | 0,06 |
| Al éch | me/100g | 4,28 | 6,25 | 7,09 | 5,93 | 7,05 | 7,73 | < 0.01 | 4,03 | 7,18 | < 0.01 | 2,97 | 7,4 |
| Mn éch | me/100g | 0,28 | 0,09 | 0,08 | 0,28 | 0,1 | 0,07 | 0,04 | 0,05 | 0,05 | 0,03 | 0,04 | 0,05 |
| H éch | me/100g | 0,24 | 0,19 | 0,19 | 0,3 | 0,2 | 0,17 | < 0.01 | 0,15 | 0,19 | < 0.01 | 0,13 | 0,18 |
| S(Ca,Mg,K,Na) | me/100g | 6,26 | 2,8 | 2,13 | 4,03 | 2,15 | 2,15 | 20,99 | 5,15 | 2,74 | 21,62 | 6,67 | 2,1 |
| CEC | me/100g | 13,52 | 11,63 | 11,59 | 13,08 | 10,96 | 11,65 | 22,4 | 11,15 | 12,41 | 22,9 | 11,95 | 11,32 |
| TS | % | 46,28 | 24,12 | 18,38 | 30,83 | 19,66 | 18,42 | 93,7 | 46,16 | 22,06 | 94,42 | 55,85 | 18,55 |
| pH Co | | 3,92 | 4,02 | 4,03 | 3,82 | 3,99 | 4,07 | 6,18 | 4,13 | 4,03 | 6,35 | 4,18 | 4,05 |

répétition de l'essai. Un sous échantillon de la biomasse prélevée a été pesé en vert et séché à l'étuve (80°C) pour déterminer le % de matière sèche et évaluer la biomasse sèche exprimée en tonnes de matières sèches par hectare.

Biomasse de racines

La biomasse de racines a été évaluée par prélèvement à la tarière ($\varnothing = 6$ cm, longueur du cylindre prélevé 10 cm) de 0 à 60 cm en juin 2005, sur les traitements témoin, NPK, CaO + NPK, CaCO₃ + NPK, CaCO₃. Après extraction par tamisage et lavage, les racines sont séchées à l'étuve (80 °C) pendant 48h, pesées pour obtenir le % de matière sèche, puis calcinées pour corriger les éventuelles traces de terre. Le résultat obtenu est donc la matière organique de racines par unité de volume de sol. La correspondance avec la longueur de racines a été assurée par scannage d'un sous échantillon pour chaque échantillon.

2.6. Indices de nutrition

Un échantillon de biomasse commun aux trois blocs a été broyé et analysé pour déterminer la teneur en N, P et K du fourrage. Il n'y a pas de répétition de ces analyses, mais seulement une répétition annuelle. Les indices évaluent l'écart de la nutrition de la prairie par rapport à une nutrition optimale : Ainsi pour l'azote on calcule:

$$\text{INN} = \% \text{ N mesuré} / \% \text{ N critique} * 100$$

Le %N critique de référence est égal à :

$$\text{N critique (\% ms)} = 4.8 * [\text{MS(t/ha)}]^{-0.32} \quad (\text{Lemaire G. et Gastal, 1997})$$

4.8 (%) est la concentration optimale en azote pour une biomasse accumulée d'une tonne par hectare, MS est la quantité de matière sèche exprimée en tonnes par hectare et -0.32 est le coefficient de dilution de l'azote dans la biomasse accumulée au cours de la croissance (Lemaire et Salette, 1984).

Pour P et K (Duru et Thélier-Huché, 1997) les indices dépendent de la teneur en azote et sont calculés selon :

$$\text{INP} = 100 * \text{P\% observé} / (0.15 + 0.065 * \text{N\% observé})$$

$$\text{INK} = 100 * \text{K\% observé} / (1.6 + 0.525 * \text{N\% observé})$$

2.7. Statistique

Le package statistique StatBox 2.0 (Grimmersoft, Paris, France) a été employé pour analyser les résultats. Le test de Newman et Keuls a été utilisé pour comparer les moyennes à P 0.05.

3. Réponse spécifique des espèces en culture en pot

3.1. Choix des espèces

Les espèces ont été sélectionnées à partir des espèces présentes dans l'essai de Massat (**Tableau 10**). Des espèces à RGR faible, représentent le milieu prairial étudié : *B. pinnatum*, *F. rubra*, *H. sulcatum*, *M. caerulea*, *S. decumbens* avec un RGR fort en solution nutritive en phytotron mais une croissance plus faible en pot a été jointe à ce premier groupe. Ces espèces ont été comparées à quatre espèces à RGR fort *A. capillaris*, *D. glomerata*, *H. lanatus*, et *L. perenne* cv Clerpin. Parmi ces espèces *A. capillaris* (fréquente) et *H. lanatus* (rare) sont les seules présentes dans l'essai de Massat. *D. glomerata* et *L. perenne* cv Clerpin, absents, ont été introduits comme témoins sensibles à Al. Deux *B. pinnatum* (Ercé - origine Pyrénées et *B. pinnatum* (Alpes) origine Grande Chartreuse - Alpes) introduits pour comparaison à l'essai en phytotron et *Helictotrichon sulcatum* n'ont pas bien germé ou poussé et n'ont pas pu être étudiés complètement.

3.2. Sol

Le sol a été prélevé à proximité immédiate de l'emplacement de l'essai de plein champ de Massat (Matériel et Méthodes page 45). Le sol a été pris entre 5 et 10 cm de profondeur environ. Le choix de cet horizon B, permet d'amplifier les caractères sol acide et sol pauvre en phosphore (**Tableau 11**). Une quantité de 500 kilogrammes de sol a été séchée à l'air, tamisée à 1 cm, et homogénéisée. Le sol a été analysé après mélange. La moitié de la quantité a été employée pour les pots témoins; le reste a été chaulé en utilisant l'addition répétée de 0.02 M Ca(OH)₂ solution jusqu'à pH 6.2. Le sol a été séché à nouveau avant le remplissage des pots (210 g de sol séché à l'air).

3.3. Traitements

Les traitements réalisés sont Témoin, CaO, NP, CaO NP. Lorsque le taux de germination était suffisant on a parfois pu réaliser les traitements, N et P.

Le sol a été fertilisé à l'aide de solutions de: NH₄NO₃, KCl, MgCl₂, 6H₂O et KH₂PO₄. Dans tous les traitements, K a été appliqué à 628 mg.kg⁻¹ et Mg à 71 mg.kg⁻¹ de sol. Après séchage, les pots ont été réhumectés à l'eau distillée (témoin) ou avec des solutions de NH₄NO₃ (N et NP) ou de KH₂PO₄ selon les traitements. P a été apporté comme KH₂PO₄ à 81 mg.kg⁻¹ de sol. L'azote a été ajouté sous forme NH₄NO₃ à 629 mg.kg⁻¹ en trois doses successives (210 mg.kg⁻¹) apportées au début de la culture puis tous les 16 jours (espèces *Dg*, *Hl*, *Lp*). Pour les espèces *Ac*, *Fr*, *Hs*, *Mc* et *Sd*, tous les 35 jours. Pour les espèces l'apport d'azote a été complété approximativement au 1/3 et 2/3 de la période de croissance.

Tableau 10. Espèces testées dans l'essai en pot. Le caractère gras signale des combinaisons traitement x espèces qui sont absentes en plein champ et qui ont été testées en pot. *L. perenne* et *D. glomerata* ont été introduites comme témoins. Deux Brachypodes ont été testés pour comparaison à l'essai en phytotron de 2005.

| témoin | témoin + NPK | témoin + NPK + CaCO ₃ | témoin + CaCO ₃ |
|---------------------------|----------------------------|----------------------------------|----------------------------|
| <i>A. capillaris</i> | <i>A. capillaris</i> | <i>A. capillaris</i> | <i>A. capillaris</i> |
| <i>H. sulcatum</i> | <i>H. sulcatum</i> | <i>H. sulcatum</i> | <i>H. sulcatum</i> |
| <i>B. pinnatum</i> | <i>B. pinnatum</i> | <i>B. pinnatum</i> | <i>B. pinnatum</i> |
| <i>S. decumbens</i> | <i>S. decumbens</i> | <i>S. decumbens</i> | <i>S. decumbens</i> |
| <i>F. rubra</i> | <i>F. rubra</i> | <i>F. rubra</i> | <i>F. rubra</i> |
| <i>M. caerulea</i> | <i>M. caerulea</i> | <i>M. caerulea</i> | <i>M. caerulea</i> |
| <i>H. lanatus</i> | <i>H. lanatus</i> | <i>H. lanatus</i> | <i>H. lanatus</i> |
| <i>L. perenne</i> CLERPIN | <i>L. perenne</i> CLERPIN | <i>L. perenne</i> CLERPIN | <i>L. perenne</i> CLERPIN |
| <i>D. glomerata</i> | <i>D. glomerata</i> | <i>D. glomerata</i> | <i>D. glomerata</i> |
| <i>B. pinnatum</i> Alpes | <i>B. pinnatum</i> Alpes | <i>B. pinnatum</i> Alpes | <i>B. pinnatum</i> Alpes |
| <i>B. sylvaticum</i> | <i>B. sylvaticum</i> | <i>B. sylvaticum</i> | <i>B. sylvaticum</i> |

Tableau 11. Composition du sol utilise dans l'essai en pot (Analyses INRA d'Arras)

| Paramètre | moyenne | se | n |
|--|---------|------|---|
| pH (water) | 4.90 | 0.05 | 4 |
| pH (KCl 1 M) | 3.87 | 0.01 | 4 |
| C (g.kg ⁻¹) | 24.35 | 0.95 | 2 |
| N (g.kg ⁻¹) | 2.17 | 0.20 | 2 |
| argile (%) | 39.50 | 0.30 | 2 |
| Olsen-P P ₂ O ₅ (mg.kg ⁻¹) | 14.8 | 0.30 | 2 |
| Olsen-P (mg.kg ⁻¹) | 6.46 | 0.13 | 2 |
| CEC Metson (cmol ⁺ .kg ⁻¹) | 16.95 | 0.55 | 4 |
| Éléments échangeables avec CH ₃ COONH ₄ 1 M | | | |
| K (cmol+.kg-1) | 0.59 | 0.03 | 2 |
| Ca (cmol+.kg-1) | 3.11 | 0.02 | 2 |
| Mg (cmol+.kg-1) | 0.74 | 0.01 | 2 |
| Al KCl 1M (cmol+.kg-1) | 6.88 | 0.09 | 2 |

Tableau 12. Comparaison des techniques de fertilisation utilisées dans différents essais

| Paramètres | Curtin et Smillie (1986) | V. Poozesh (2005) | Equivalence en kg / ha de N, P ₂ O ₅ , K ₂ O |
|---------------------------------------|-----------------------------|----------------------|--|
| Nombre de plantes / pot | 10 | 3 - 5 | |
| Biomasse récoltée (g ms) | 0 - 5 | 0 - 5 | |
| Poids de sol par pot (g) | 335 | 210 | |
| Apport de N (mg.kg ⁻¹ sol) | 150 | 627 | 180 |
| Apport de P (mg.kg ⁻¹ sol) | 20 | 80 | 79 |
| Apport de K (mg.kg ⁻¹ sol) | 100 | 628 | 377 |

Les fertilisations utilisées ont été calculées sur la base d'une production de biomasse de 3g de ms par pot soit 132 mg N, 17 mg P et 153 mg K par pot. Exprimées en base surfacique, elles correspondent à un niveau de fertilisation (kg / ha) normal (**Tableau 12**). Exprimées en mg / kg de sol, ces fertilisations sont cependant 4 à 6 fois supérieures à celles utilisées par Curtin et Smillie (1986 b). Par ailleurs, leur effet est probablement plus fort que dans un sol naturel à cause du petit volume des pots.

3.4. Dispositif

Les traitements ont été répétés dans un dispositif en bloc en serre. Chaque combinaison espèces x traitement a été répétée cinq fois (*Lp Dg, Hl*) et quatre fois pour *Ac, Fr, Mc* et *Sd*. En définitive, pour la plupart des espèces seules 4 répétitions homogènes ont été conservées

3.5. Conditions de culture

Toutes les graines ont été désinfectées à l'hypochlorite et traitées au bénomyl. Les espèces à besoin de vernalisation (*S. decumbens, M. caerulea, B. pinnatum*) sont semées en boîte de pétri, sur filtre humide, 10 jours avant les autres et conservées au réfrigérateur pendant 10 jours (4°C) avant d'être semées en pot. Pour les autres espèces, les graines ont été semées directement dans les pots, maintenus approximativement à l'humidité de la capacité au champ. Après germination, les plantes ont été éclaircies à cinq par pot (*Dg, Hl, Lp*) et trois pour (*Fr*) à cause de sa disposition en touffes. Les pots ont été maintenus à environ 70 % de l'humidité à la CR.

Les conditions dans la serre ont été les suivantes : température nuit 15 - 17°C, température jour 23° C – 30 °C. La photopériode a été étendue à 13 h de jour par un éclairage artificiel, venant en complément de la lumière naturelle. La durée de l'expérience a été adaptée à la vitesse de croissance des espèces. Les espèces *Dg, Lp* et *Hl* ont été récoltées 50 jours après la levée. *Ac, Fr, Mc, Sd* et *Hs* ont été récoltées à 135 jours après la levée.

3.6. Mesures des parties aériennes

A la récolte, les parties aériennes ont été séchées à 80° C pendant deux jours, pesées et broyées. Les échantillons correspondant aux traitements T, NP et CaO NP ont été analysés pour les espèces et les traitements ayant produit au moins 200 mg de matière sèche. L'azote a été déterminé en utilisant un analyseur C /N (LECO, France). Les autres éléments (P, K, Ca, Mg, Al, Mn) ont été obtenus après minéralisation dans l'acide fluorhydrique HF, en utilisant l'analyse ICP radiale (INRA Bordeaux).

3.7. Mesure des racines

Les racines de *Hl* et *Lpc* ont été séparées du sol dans un appareil (**Figure 6**) selon Smucker *et al.*, (1982). Les racines ont été pesées fraîches, séchées (*Hl*, *Lpc*) et après calcination pour la houlque seulement (*Hl*). Pour *Lpc*, les échantillons encore contaminés par de la terre après lavage ont été identifiés par régression linéaire (poids sec = f (poids frais)) et éliminés de l'analyse statistique (2 échantillons *Lpc*). Pour *Hl*, les échantillons des traitements T, P, NP, CaONP ont été calcinés après séchage. La matière sèche de racine de houlque a été recalculée à partir du poids de matière organique (matière sèche – cendres) et d'un taux de cendres unique pour tous les échantillons évalué à 7.5 % de cendres.

Pour chaque espèce, une partie des racines a été colorée avec une dilution de violet de méthyle (1 g / 100 ml éthanol). La longueur des racines a été mesurée à l'aide du logiciel WinRhizo (Regent Instruments Inc., Québec, Canada) en utilisant une densité de racines inférieure à 5.0 cm par cm² (Bouma *et al.*, 2000).

3.8. Analyse statistique

La comparaison des traitements témoins, engrais et chaux a été réalisée pour chaque espèce par l'analyse de variance à 2 facteurs chaux × engrais (plan factoriel en blocs) des données transformées {log (1+x)} avec le logiciel StatBox. Les résultats significatifs correspondent à *P* 0.05.

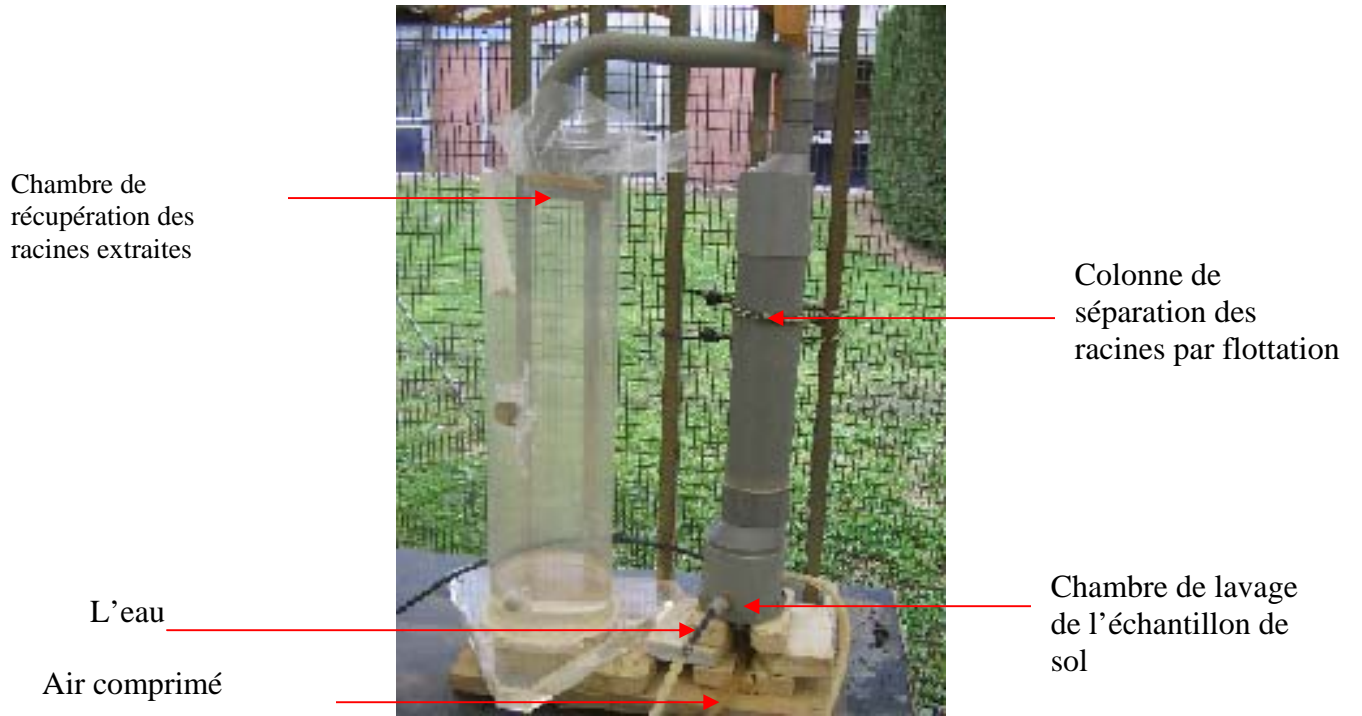


Figure 6. L'appareil de séparation des racines

4. Résistance à Al en solution nutritive

4.1. Evaluation de la résistance spécifique à l'aluminium

La toxicité de Al a été étudiée sur les espèces présentes à Massat à partir des semences de l'équipe Orphée. Des espèces témoins, sensibles à l'aluminium, dont la résistance à Al est connue (Wheeler *et al.*, 1992) permettent de vérifier les résultats obtenus. Quelques espèces ont une croissance rapide (*Ao*, *Lp*) tandis que d'autres poussent plus lentement (*Bp*, *Cc*). Pour avoir des biomasses des témoins comparables au moment de la récolte, les espèces à RGR fort sont récoltées après 14 jours de culture et celles à RGR faible après 21 jours.

4.2. Conditions générales

Les graines stérilisées et vernalisées ont été mises à germer pendant une ou deux semaines, selon les espèces, sur le papier filtre humide dans des boîtes de Pétri. Après germination, 12 ou 20 plantules uniformes ont été triées et réparties en 4 lots. Chaque lot de trois à cinq plantes a été pris comme unité d'expérience. Quand la longueur de la racine principale était de 1 ± 0.5 cm, les plantules ont été transférées dans les différentes solutions d'éléments nutritifs, avec ou sans Al dans une chambre à culture avec les conditions suivantes : jour : 14 h, densité de flux de photon en moyenne de la hauteur de la plante $260 \mu\text{moles} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (PAR), température 25 °C, humidité relative 70 % ; nuit : 10 h, température 18 °C. Les espèces ont été cultivées dans quatre bacs de traitement de 48 L correspondant à quatre concentrations de Al. Le même protocole expérimental a été répété trois fois dans le temps.

4.3. Solution Nutritive

Les traitements sont réalisés sur la base d'une solution conçue par Wenzl *et al.* (2003), qui s'appuie sur des études de sol et vise à simuler un sol acide. Wenzl *et al.* (2003) ont ainsi produit deux solutions de même acidité, mais de concentrations différentes en nutriments : l'une à un niveau adéquat en nutriments, l'autre à un niveau faible en nutriments. La solution pauvre en nutriments, qui permet de bien mettre en évidence la tolérance des plantes à l'acidité du sol, et plus proche d'un sol naturel, a été retenue pour réaliser la solution nutritive mère des traitements. La solution nutritive est composée comme suit (μM): 100 NO_3 , 10 NH_4 , 60 Ca, 30 Mg, 60 K, 1 P, 100 S, 6 B, 5 Fe, 1 Zn, 1 Mn, 0.2 Cu, 5 Si, 5 H_2EDTA , 0.001 Mo, 160 Na. Al a été ajouté aux concentrations de 0 (contrôle), 40, 80 et 160 μM d' AlCl_3 acidifié correspondant à 0, 22, 43, 83 μM $\{\text{Al}^{3+}\}$. Ces valeurs correspondent à la gamme $\{\text{Al}^{3+}\}$ de prévu dans les sols acides tempérés (Wright *et al.*, 1987). L'expérience est menée à un pH de 4.2. Ce pH est contrôlé sur la solution neuve puis chaque jour. La concentration de HCl (55.4 μM) a été ajustée pour obtenir une valeur du pH de la solution dans la gamme de 4.2 ± 0.1 . La solution est aérée en continu par des bulleurs pour oxygéner les racines. La solution est jetée

et renouvelée au bout de 3 jours afin de réduire au minimum les variations de la concentration des éléments nutritifs. L'activité d' Al^{3+} a été calculée avec GEOCHEM 2.0 (Parker *et al.*, 1987) en utilisant les constantes de stabilité de Nordstrom et May (1989) et les constantes de solubilité d' $\text{Al}(\text{OH})_3$ mentionnées par Kinraide et Parker (1989).

4.4. Quantification de la résistance à Al

Les plantes ont été récoltées après 14 jours (espèces à fort croissance) ou 21 jours (espèces à faible croissance) de croissance aux différentes concentrations d'Al. Elles ont été séparées en racines et parties aériennes. Les racines colorées comme précédemment ont été scannées, séchées à l'étuve (80°C) et pesées pour avoir le poids sec de racine. Le logiciel WinRhizo (Regent Instruments Inc., Québec, Canada) a été utilisé pour obtenir la longueur générale de racines. Les données des trois répétitions successives pour chaque espèce et traitement ont été mises en commun pour les calculs. L'élongation relative des racines (RRE) des plantes et l'activité $\{\text{Al}^{3+}\}_{50}$ à laquelle RRE a été réduit à 50 % du contrôle ont été calculées selon la méthode de Wenzl *et al.*, (2001). Brièvement, RRE et $\{\text{Al}^{3+}\}_{50}$ ont été calculés comme suit:

$$\text{RRE} = 100 (\text{RL Al} - \text{RL } \infty) / (\text{RL 0} - \text{RL } \infty)$$

Où RL Al est la longueur de racine dans le traitement d'Al, RL ∞ est la moyenne de la longueur de racine au plus haut niveau d'Al et RL 0 est la moyenne de la longueur de racine dans la solution de contrôle (0 μM Al).

La réponse de RRE à $\{\text{Al}\}$ a été modélisée par une équation de Weibull comme suggéré par Kinraide et Parker (1989) et Wenzl (2001) avec calcul des paramètres a et b par la procédure nls de R (Ihaka and Gentleman, 1996):

$$\text{RRE} = 100 / \exp((a \{\text{Al}^{3+}\})^b)$$

L'activité $\{\text{Al}^{3+}\}_{50}$ à laquelle RRE est réduit à 50 % du contrôle a été calculée à partir des valeurs empiriques a et b selon la formule :

$$\{\text{Al}^{3+}\}_{50} = a^{-1} (\ln(2))^{1/b}$$

Comme les concentrations testées (22-83 μM $\{\text{Al}^{3+}\}$ sont hautes, les calculs ne sont pas bien adaptés aux espèces sensibles à valeurs $\{\text{Al}^{3+}\}_{50}$ faibles (1 – 6 μM $\{\text{Al}^{3+}\}_{50}$ comme par exemple *C. cristatus*, *L. perenne* et *D. glomerata*.

4.5. Analyse statistique

L'analyse de la variance a été réalisée avec le logiciel StatBox (Grimmersoft, Paris, France) sur les données log - transformées à chaque niveau d'Al. Les résultats significatifs correspondent à $P < 0.05$. L'erreur standard s.e. de $\{\text{Al}^{3+}\}_{50}$ a été calculée selon Wenzl *et al.* (2001).

Chapitre III.
RESULTATS

Tableau 13. Traits mesurés en phytotron sur les 16 espèces étudiées. Surface spécifique foliaire (SSF, $\text{m}^2.\text{kg}^{-1}$), teneur en matière sèche (TMS F feuilles, G gaines, R racines mg.g^{-1}), épaisseur de la feuille (EP, 10^{-6} m), teneur en azote et en phosphore foliaire (N ‰, P ‰, mg.g^{-1} ms), Indice de chlorophylle (SPAD unités SPAD), vitesse de croissance (RGR, $\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$), ratio surface foliaire / biomasse totale (LAR, $\text{m}^2.\text{kg}^{-1}$), assimilation nette NAR ($\text{g} . \text{m}^2 . \text{j}^{-1}$).

| espèces | PST final (par plante) | PA / R ratio | TMSF | TMSG | TMSR | SSF | EP | N‰ | SPAD | P‰ | RGR | LAR | NAR |
|------------|------------------------------|-----------------|------|------|------|------|-----|------|------|-----|-----|------|------|
| <i>Ac</i> | 1.53 | 3.62 | 185 | 141 | 104 | 33.8 | 160 | 56.0 | 47.0 | 5.4 | 250 | 15.2 | 16.6 |
| <i>Ao</i> | 0.35 | 2.13 | 168 | 110 | 101 | 33.6 | 178 | 64.0 | 39.5 | 5.5 | 230 | 16.9 | 13.6 |
| <i>Ae</i> | 0.47 | 4.14 | 176 | 112 | 122 | 36.8 | 154 | 65.0 | 34.9 | 5.3 | 203 | 18.7 | 10.9 |
| <i>Hs</i> | 0.48 | 3.21 | 197 | 134 | 97 | 22.5 | 229 | 64.0 | – | 8.2 | 211 | 11.8 | 18.2 |
| <i>Bp</i> | 0.24 | 4.81 | 290 | 199 | 152 | 22.5 | 154 | 38.7 | 34.7 | 3.7 | 124 | 12.3 | 10.1 |
| <i>Bs</i> | 0.24 | 3.29 | 274 | 198 | 151 | 37.7 | 97 | 61.3 | 22.5 | 6.7 | 146 | 16.2 | 9.0 |
| <i>Bm</i> | 0.28 | 2.66 | 280 | 201 | 141 | 21.5 | 167 | 51.7 | 51.0 | 8.1 | 138 | 9.7 | 14.2 |
| <i>Dg</i> | 0.44 | 3.83 | 176 | 113 | 111 | 38.4 | 148 | 57.3 | 44.6 | 4.8 | 242 | 17.8 | 13.6 |
| <i>Sd</i> | 0.33 | 2.90 | 224 | 162 | 128 | 24.8 | 181 | 54.3 | 39.6 | 5.2 | 196 | 13.2 | 14.9 |
| <i>Fr</i> | 0.37 | 3.37 | 213 | 158 | 111 | 17.9 | 263 | 64.7 | – | 7.4 | 203 | 8.8 | 23.1 |
| <i>Fe</i> | 0.29 | 4.14 | 284 | 218 | 124 | 14.4 | 408 | 48.7 | – | 4.9 | 135 | 8.3 | 16.4 |
| <i>Hl</i> | 0.7 | 3.57 | 147 | 100 | 118 | 43.4 | 157 | 68.0 | 38.0 | 8.6 | 236 | 20.2 | 11.7 |
| <i>Lp</i> | 0.97 | 2.37 | 133 | 105 | 101 | 36.9 | 205 | 69.3 | 43.8 | 6.9 | 287 | 17.0 | 17.0 |
| <i>Lpc</i> | 0.48 | 2.57 | 143 | 107 | 99 | 34.3 | 204 | 72.0 | – | 7.9 | 209 | 16.2 | 12.9 |
| <i>Mc</i> | 0.22 | 2.41 | 287 | 173 | 142 | 20.2 | 173 | 58.7 | – | 4.0 | 140 | 9.0 | 15.5 |
| <i>Ns</i> | 0.19 | 2.66 | 310 | 171 | 110 | 8.7 | 378 | 47.3 | – | 5.9 | 127 | 4.2 | 31.7 |

1. Typologie des graminées des sols acides et pauvres

1.1 Vue d'ensemble des traits des espèces

Le choix d'espèces effectué a permis d'observer un domaine de variation important de vitesse de croissance et de traits foliaires (**Tableau 13**). Les relations entre les traits sont illustrées par la matrice des corrélations (**Annexe 5**). Les corrélations significatives sont nombreuses. Nous avons choisi de présenter les relations dont les coefficients de corrélation sont les plus élevés : les corrélations entre TMSF et d'autre part (TMSG, TMSR, SSF, N ‰, RGR et LAR). La TMSG est plus faible que la TMSF en raison de la teneur en eau plus élevée des gaines mais bien corrélée à la TMSF (TMSF – TMSG $r = 0.92$ ***). La TMS R, biaisée par la difficulté de mesure du poids frais des racines est assez bien corrélée à celle des gaines ($r = 0.72$ **) et à celle des feuilles ($r = 0.70$ **).

Parmi ces relations, la corrélation TMS – RGR ($r = 0.94$ ***) est particulièrement nette. Elle suggère qu'en l'absence de facteur limitant autre que le niveau d'éclairement (stress hydrique, nutrition minérale, stress mécaniques,...), la vitesse de croissance des graminées est presque complètement définie par la teneur en matière sèche (**Figure 7 a**). La relation entre TMSF et N ‰ ($r = 0.80$ ***) est aussi assez remarquable (**Figure 7 b**). Les teneurs en azote élevées s'expliquent par la jeunesse des plantes à la récolte, par la forte alimentation azotée en solution nutritive et le faible éclairement en phytotron. Une partie de cet azote est probablement sous forme minérale.

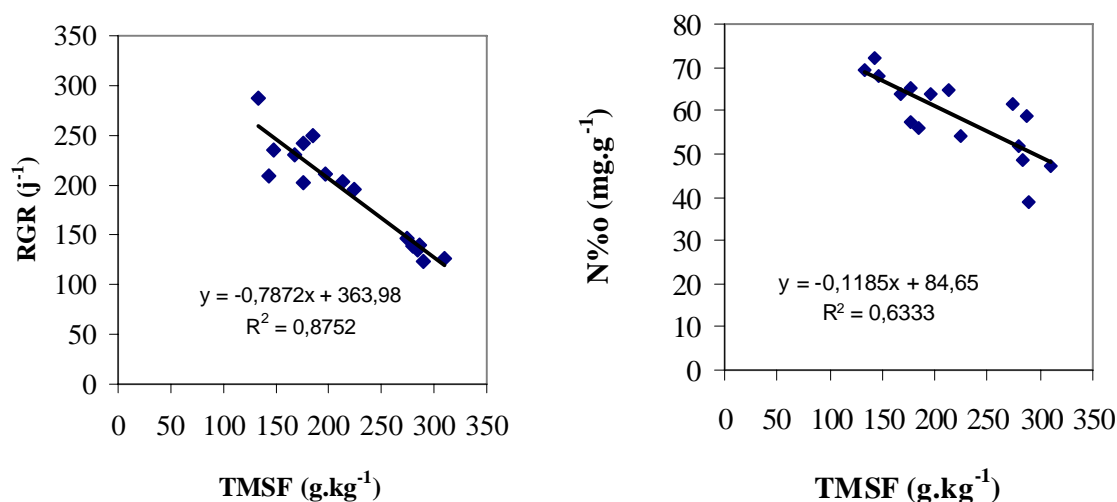


Figure 7 a : Relation TMSF – RGR

Figure 7 b : Relation TMSF – N ‰

Note : teneur en matière sèche foliaire TMSF = LDMC, vitesse de croissance (RGR, g.kg⁻¹.j⁻¹), teneur en azote (N ‰, mg. g⁻¹ ms).

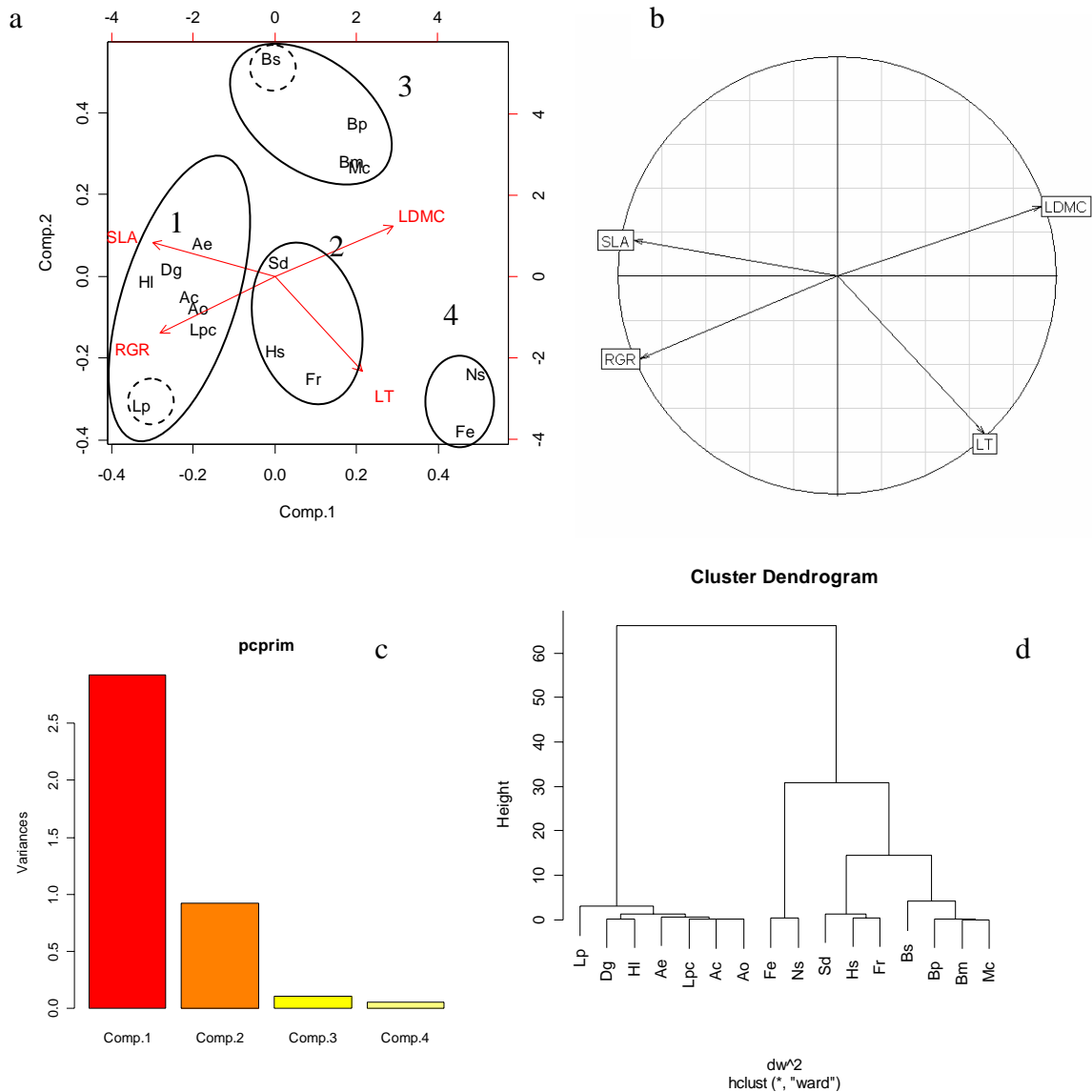


Figure 8. Analyse en composantes principales des traits foliaires et de la vitesse de croissance des espèces : **a** premier plan principal de l'ACP. **b.** cercle des corrélations. **c.** variance expliquée par chacune des composantes principales. **d.** Classification des espèces dans le premier plan de l'ACP. Codes des variables, ci-dessous, Tableau 14. Codes des espèces : initiales du nom latin p 38.

Tableau 14. Matrice des corrélations des variables de l'ACP, entre elles (LDMS teneur en matière sèche foliaire, SLA surface spécifique foliaire, LT épaisseur de feuille RGR vitesse de croissance relative) et avec les premiers axes principaux (Comp.1, Comp. 2).

| | LDMC | SLA | LT | RGR | Comp. 1 | Comp. 2 |
|------|-------|--------|--------|--------|---------|---------|
| LDMC | 1.000 | -0.786 | 0.403 | -0.935 | 0.929 | 0.319 |
| SLA | -- | 1.000 | -0.679 | 0.724 | -0.927 | 0.165 |
| LT | -- | -- | 1.000 | -0.361 | 0.671 | -0.719 |
| RGR | -- | -- | -- | 1.000 | -0.900 | -0.376 |

La surface foliaire (plante) par unité de matière sèche (plante) est très corrélée à SSF (LAR – SSF 0.98 ***, **Figure 9**). Cette relation s'explique par la corrélation poids des feuilles d'une plante et poids de la plante entière ($r = 0.99$) liée au calcul de ces paramètres. Les corrélations négatives SSF - EP et SSF – TMS sont bien connues (Witkowski and Lamont, 1991; Westoby, 1998; Wilson *et al.*, 1999, Garnier *et al.*, 2001)

La surface spécifique foliaire (SSF) est corrélée positivement au taux de croissance relatif (RGR), aux concentrations des éléments N et P dans les feuilles et à la capacité photosynthétique (**Annexe 5**). Les plantes à fortes SSF sont souvent caractérisées par une forte capacité à intercepter la lumière et par une forte transpiration en corrélation avec leur surface foliaire.

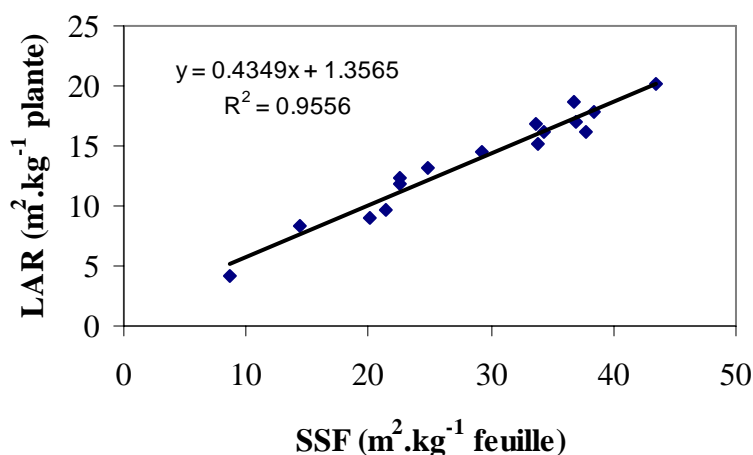


Figure 9. Relation entre surface spécifique foliaire (SSF = SLA) – ratio surface foliaire biomasse totale (LAR).

1. 2. Typologie des espèces

L'ACP des traits des espèces est présenté dans la **Figure 8** et le **tableau 14**. L'axe 1 oppose, les espèces à faible vitesse de croissance, forte teneur en matière sèche et forte épaisseur de limbe, à droite, et les espèces à forte vitesse de croissance et forte surface spécifique foliaire à gauche. La composante 2 est corrélée à l'épaisseur de feuille. Les groupes d'espèces obtenus correspondent bien aux groupes A, B, C, D définis en plein champ par la TMS, la durée de vie des feuilles et la digestibilité (Ansquer *et al.*, 2004). Le groupe 1 contient des espèces des groupes A et B, *Lp*, *Hl*, *Ao*, *Ae*, *Dg* et une espèce du groupe C, *Ac*. Le groupe 2 contient la féтуque rouge (groupe C). Le groupe 3 ne contient que des espèces du groupe D. Enfin le nard et le gispet (groupe 4) se distinguent de toutes les autres espèces.

Tableau 15. Corrélation entre teneur en matière sèche (TMS = LDMC) et surface spécifique foliaire (SSF = SLA) mesurées dans des environnements contrastés (phytotron, champ, collection).

| Traitements | coefficients de corrélation | Traits | |
|------------------------|-----------------------------|----------|---------|
| | | TMS | SSF |
| Phytotron - collection | r Pearson | 0.91 *** | 0.66 * |
| | r Spearman | 0.88 *** | 0.75 ** |
| Phytotron - champ | r Pearson | 0.83 *** | 0.79 ** |
| | r Spearman | 0.89 *** | 0.73 ** |
| collection - champ | r Pearson | 0.87 *** | 0.75 ** |
| | r Spearman | 0.74 ** | 0.83 ** |

*** P < 0.001; ** P < 0.01; * P < 0.05

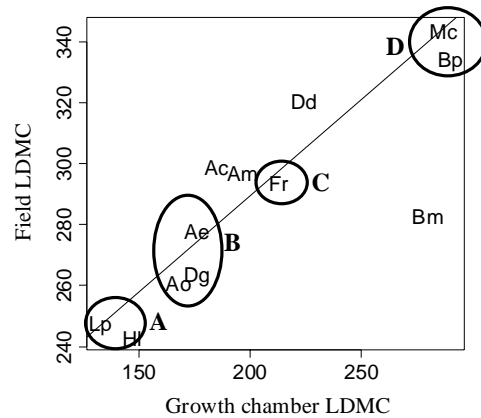


Figure 10 . Relation entre la teneur en matière sèche foliaire (TMSF = LDMC) mesurée au phytotron et en plein champ.

Relation between field and growth chamber LDMC of grasses (n = 11, *Bm* excluded; Pearson's r = 0.945 ***, Spearman's r = 0.943 ***). A, B, C and D are functional types of grasses (Ansquer *et al.*, 2004) *Am* = *Hs* = *Helictotrichon sulcatum*

Tableau 16. Teneurs en matière sèche selon le milieu de culture. Phytotron, collection et plein champ (Ercé): données de Al Hadj (2006) et Ansquer (2005).

| | Phytotron | Collection | Ercé | CV |
|------------------|------------|------------------|------------|-----------------|
| <i>Ac</i> | 185 | 252 | 299 | 23 |
| <i>Ae</i> | 176 | 259 | 278 | 23 |
| <i>Ao</i> | 168 | 271 | 261 | 24 |
| <i>Bm</i> | 280 | 286 | 283 | 1 |
| <i>Bp</i> | 290 | 315 | 334 | 7 |
| <i>Cc</i> | 181 | 274 ¹ | 197 | 23 ¹ |
| <i>Dg</i> | 176 | 242 | 263 | 20 |
| <i>Fr</i> | 213 | 274 | 294 | 16 |
| <i>Hl</i> | 147 | 211 | 243 | 24 |
| <i>Hs</i> | 197 | 262 | 297 | 20 |
| <i>Lp</i> | 133 | 224 | 247 | 30 |
| <i>Mc</i> | 287 | 312 | 344 | 9 |
| moyenne | 203 | 265 | 278 | |
| ecart-type | 54 | 31 | 40 | |

1.3. Relation entre traits mesurés dans des environnements différents

Globalement, la corrélation entre les traits (TMS, SSF) observés en plein champ, en collection et au phytotron est assez bonne, meilleure pour la teneur en matière sèche que pour la surface spécifique foliaire (**Tableau 15**). Il y a une corrélation négative entre SSF et TMS (Garnier *et al.*, 2001b). Les valeurs de SSF et de TMS obtenues en phytotron sont dans l'ensemble respectivement supérieures et inférieures aux valeurs publiées en plein champ (Hunt et Cornelissen, 1997 ; Poorter et de Jong, 1999). La comparaison aux valeurs de la bibliographie est difficile du fait de la grande variabilité des valeurs publiées. Nous avons choisi de les comparer aux données obtenues par notre équipe (protocoles de mesure identiques) dans la collection et en plein champ (**Tableau 16**) : les teneurs en matière sèche sont nettement plus faibles au phytotron qu'en plein champ (**Figure 10**). Seules *Bp*, *Bm* et *Mc* présentent des teneurs en matière sèche élevées constitutives de ces espèces. Pour *Cc*, les résultats diffèrent d'une série à l'autre et ne permettent pas de conclure. Pour *Ao*, *Ac*, *Ae*, *Hl*, *Dg* la teneur en matière sèche élevée en plein champ est un caractère dû à l'adaptation au plein air (pleine lumière, nutrition minérale plus faible, âge, stress hydrique, vent, etc....).

Les résultats confirment donc l'intérêt du trait TMS pour le classement des espèces (Garnier *et al.*, 2001a ; Roche *et al.*, 2004).

1.4. Réponse à l'azote

A la fin de l'expérience la plupart des espèces ont un poids sec par plante (+ N) compris entre 0.2 et 0.6 g de ms. Trois espèces à forte vitesse de croissance *Ac*, *Hl* et *Lp* atteignent des poids secs significativement plus élevés (**Figure 11**). Les espèces diffèrent dans leur réponse à une carence en azote de 11 jours.

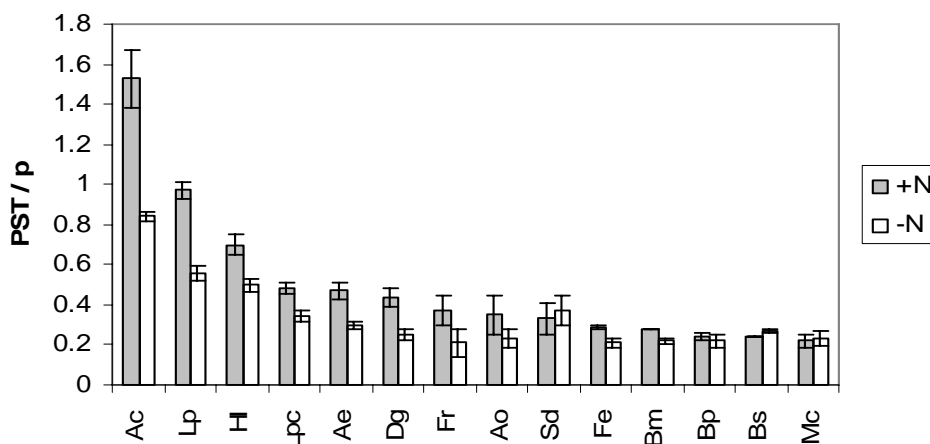


Figure 11. Poids sec total par plante (g ms) à la fin de l'essai.

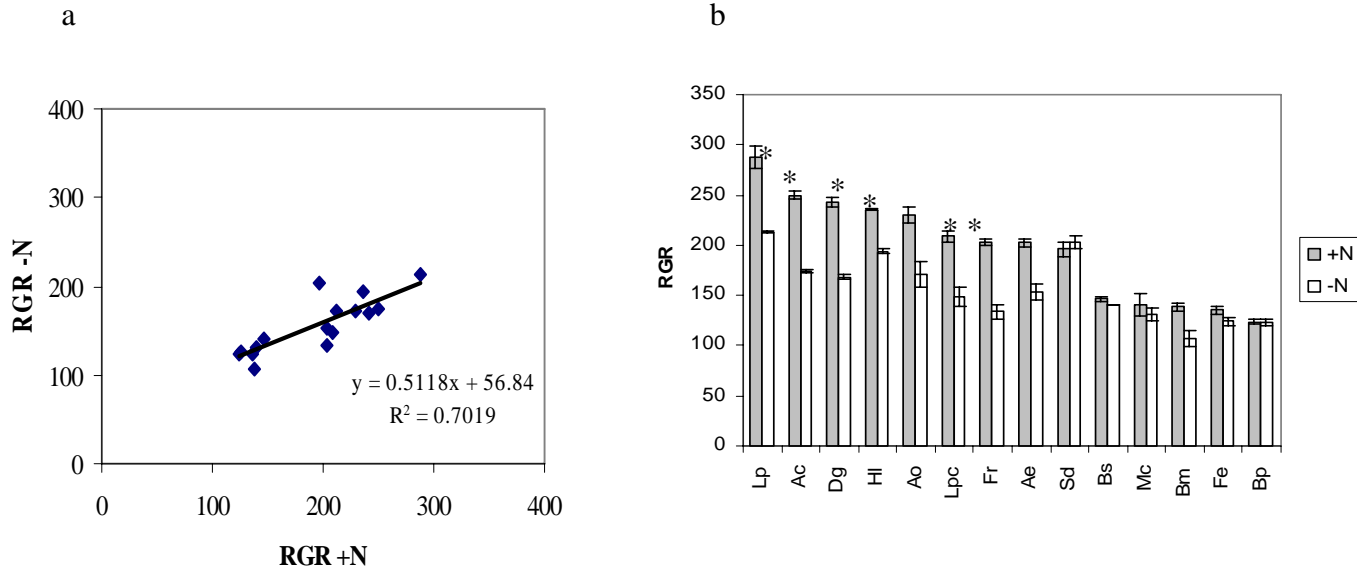


Figure 12. a. Relation entre la vitesse de croissance relative (RGR $\text{g.kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$) des plantes cultivées sous -N et la vitesse de croissance des plantes +N. **Figure 12 b.** Effet de la carence en N sur la vitesse de croissance relative de chaque espèce. * $P < 0.05$

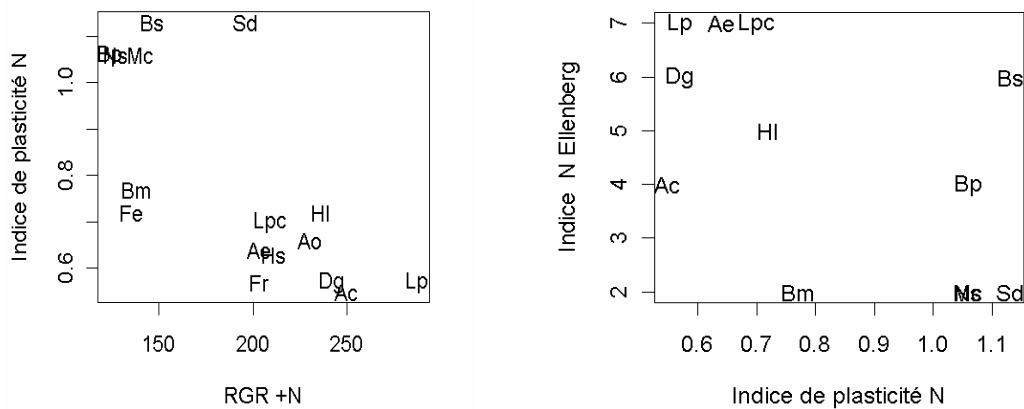


Figure 13. a. Relation entre la plasticité de N (biomasse sèche de parties aériennes en traitement carencé en N/ biomasse sèche de parties aériennes en traitement témoin plus N) et la vitesse relative de croissance (RGR $\text{g.kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$, $n = 16$, r Pearson = - 0.72 **, Bp et Ns et d'autre part Ae et Hs superposés.). **Figure 13 b:** Relation entre l'indice N Ellenberg (Ellenberg *et al.*, 1992) et la plasticité N ($n = 12$, r Spearman = - 0.53 ns, Mc et Ns superposés).

Les effets de la carence en N sont présentés dans l'ordre suivant : paramètres globalisants (vitesse de croissance relative, plasticité de la biomasse sèche totale, rapport partie aériennes / racines), traits foliaires et paramètres physiologiques.

1.4.1. RGR

Pour les espèces dont le RGR est connu, les valeurs obtenues en milieu + N sont en accord avec celles rapportées précédemment (*A. elatius* 203 vs 214, *F. rubra* 203 vs 196 ; Hunt and Cornelissen, 1997; *D. glomerata* 242 vs 225, *A. odoratum* 230 vs 199; Sugiyama, 2005 ; *L. perenne* 209 - 287 vs 189 Ryser et Wahl, 2001 – 245 Hunt et Cornelissen, 1997, *B. pinnatum* 54-66 Ryser et Lambers, 1995). Il n'y a pas à notre connaissance de données publiées sur le RGR de *Fe*, *Mc*, *Bs*, *Sd*, *Ns*. Les espèces à faible vitesse de croissance (*Bm*, *Bp*, *Bs*, *Fe*, *Mc*, *Ns*, *Sd*) sont peu influencées par 11 jours de carence absolue. Au contraire les espèces à forte vitesse de croissance montrent une diminution de leur RGR (**Figure 12a, 12b**). Ces différences sont en accord avec la distribution des espèces selon les gradients naturels de fertilité: les espèces des environnements fertiles ont une réponse de croissance à l'azote plus élevée que les espèces des environnements peu fertiles.

1.4.2. Plasticité par rapport à l'azote

La plasticité a été définie par Cheplick (1991) comme le rapport des paramètres des plantes du traitement défavorisé (- N) aux paramètres des plantes du traitement témoin (+N). L'index de plasticité de l'azote (pN) a été calculé pour la biomasse sèche (W) des plantes entières à la fin de l'expérience : $pN_{\text{espèce1}} = W(-N) / W(+N)$

Si l'espèce ne réagit pas au manque d'azote $pN = 1$ et l'espèce a une plasticité forte. Les valeurs de la plasticité ont été mises en relation avec l'indice azote d'Ellenberg (IN) dans lequel la valeur 1 indique un milieu pauvre en azote et la valeur 9 un milieu exceptionnellement riche en azote (Ellenberg *et al.*, 1992). Les indices d'Ellenberg de *H. sulcatum*, *F. ezkia*, ne sont pas connus. *A. odoratum* et *F. rubra* sont classées indifférentes (x).

La plasticité diminue quand le RGR augmente : les espèces à fort besoin de croissance sont les plus touchées par le manque d'azote (**Figure 13a**). La plasticité est corrélée négativement aux indices azote d'Ellenberg (**Figure 13b**). Il y a un assez bon accord entre nos résultats et l'indice d'Ellenberg pour les espèces indicatrices de milieux riches (IN = 7 – 9 ; *Lp*, *Dg*, *Hl*,...) et pour quelques unes des espèces indicatrices de milieux pauvres (IN = 2-3 ; *Bp*, *Mc*, *Ns*). Pour *Bm* (In=2), *Ac* (IN =5) et *Bs* (IN =6) l'accord est moins bon. L'indice d'Ellenberg est donc modérément utile pour identifier l'adaptation des graminées à la fertilité.

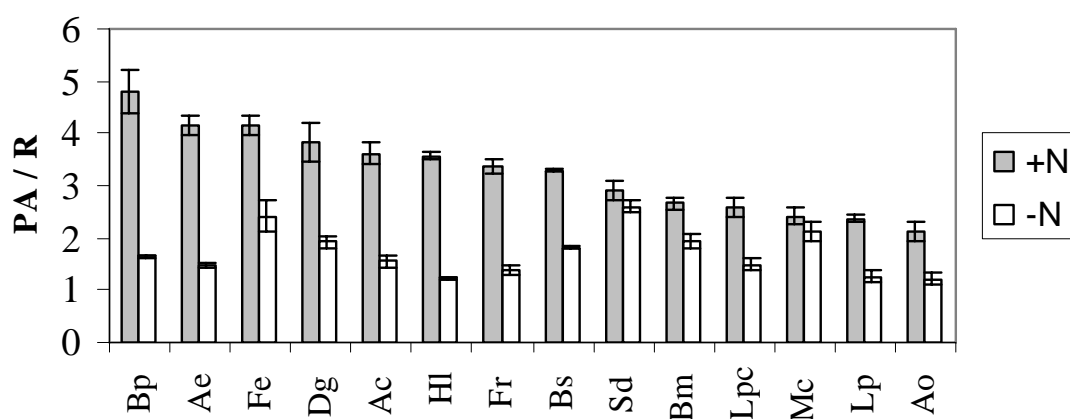


Figure 14. Réponse du rapport partie aérienne / racine (PA / R) à la carence en azote selon l'espèce

Tableau 17. Tableau d'analyse de la variance du rapport PA / R. Données transformées (Log x). P = probabilité. Détail des comparaisons de moyennes annexe 5.

| | S.C.E | DDL | C.M. | | TEST F | P | E.T. | C.V. |
|--------------------------|-------|-----|------|--|--------|----------|------|-------|
| VAR.TOTALE | 2.68 | 83 | 0.03 | | | | | |
| VAR.FACTEUR 1 espèces | 0.52 | 13 | 0.04 | | 16.6 | 1.1 E-14 | | |
| VAR.FACTEUR 2 azote | 1.66 | 1 | 1.66 | | 691.2 | 3.4 E-33 | | |
| VAR.INTER F1*2 | 0.37 | 13 | 0.03 | | 11.8 | 1.1 E-11 | | |
| VAR.RESIDUELLE 1 | 0.13 | 56 | 0 | | | | 0.05 | 0.136 |

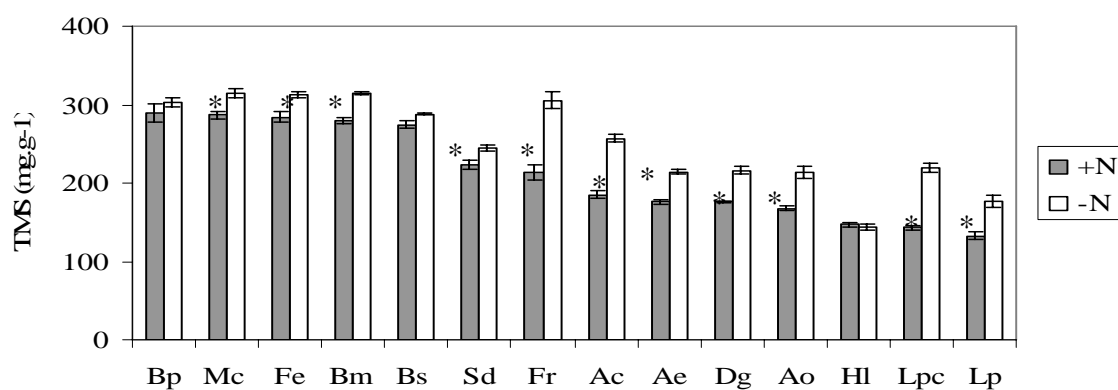


Figure 15. Effet de la carence en azote sur la teneur en matière sèche (TMS).

1.4.3. Rapport parties aériennes / racine

La carence en N diminue la fraction de biomasse investie dans les parties aériennes et augmente celle des racines. Le rapport PA/R diminue dans toutes les graminées, mais de façon plus ou moins accentuée (**Figure 14**). La diminution du rapport PA/R est un peu plus fort, en moyenne, chez les espèces à fort RGR. Chez la danthonie (*Sd*), le rapport ne diminue pas significativement. Chez les plantes carencées, plus le rapport PA/R est faible plus la sensibilité de l'espèce au manque d'azote est forte. Le classement des espèces selon ce critère (**Tableau 17**) n'est qu'approximativement en accord avec le classement des espèces selon une stratégie de capture ou de conservation (Ansquer *et al.*, 2004 ; Al Haj Khaled, *et al.*, 2005).

1.4.4. Traits foliaires

L'augmentation de la teneur en matière sèche des plantes carencées en N est significative pour toutes les espèces excepté la houlque (*Hl*) et les brachypodes (*Bp*, *Bs*) (**Figure 15**). La carence en N diminue le SLA de *Dg*, *Lpc*, *Ac*, *Bm*, *Fr* (**Figure 16**). Les autres espèces présentent des variations du SLA moins fortes, non significatives. L'absence de variation significative correspond à des teneurs en azote foliaire plus élevées chez ces espèces (**Tableau 17**): ceci suggère un moindre impact de la carence quand l'espèce a une faible vitesse de croissance (*Bm*, *Bp*, *Bs*, *Ns*, *Fe*, *Mc*) ou une meilleure remobilisation de l'azote des racines et des tiges quand l'espèce a une forte vitesse de croissance (*Ae*, *Ao*, *Hl*).

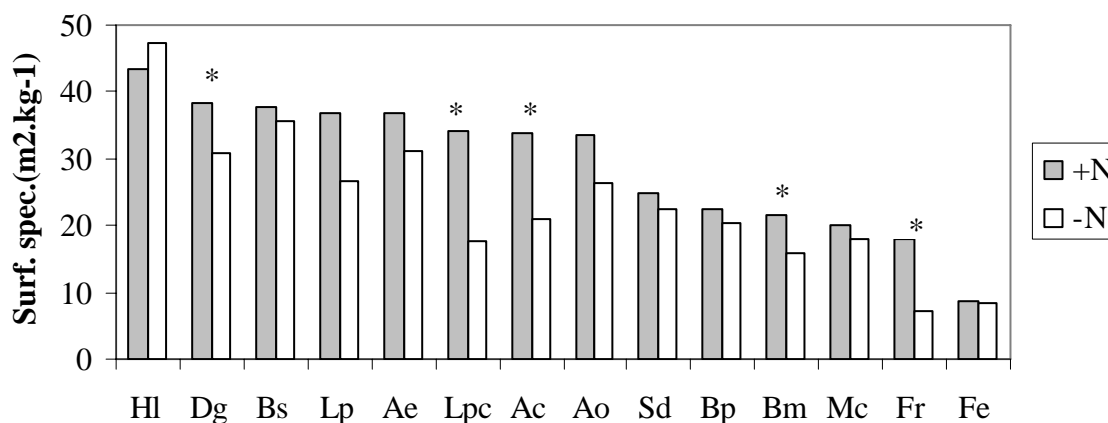


Figure 16. Effet de la carence en N sur la surface spécifique foliaire, * $P < 0.05$

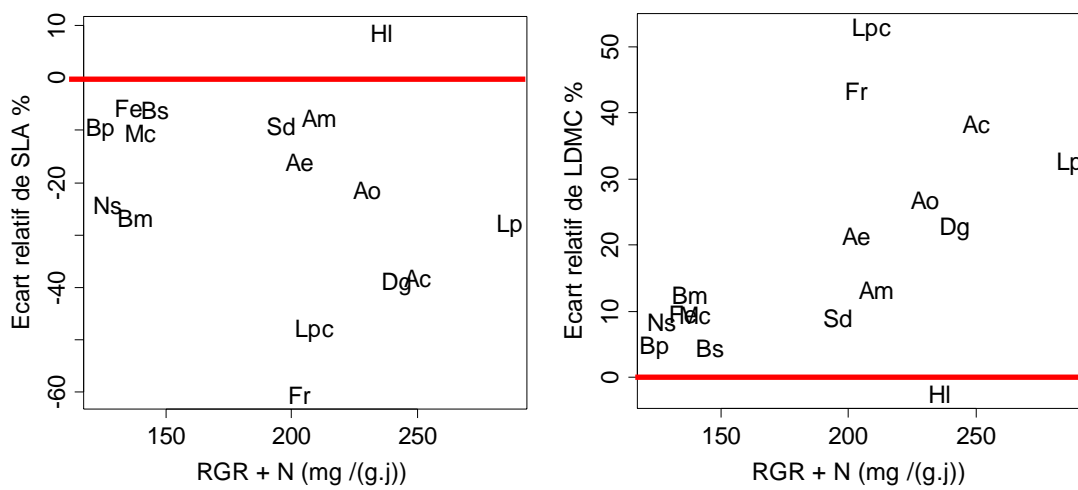
Tableau 18. Traits mesurés en phytotron en solution nutritive sans N sur les 16 espèces étudiées. Surface spécifique foliaire (SSF, $\text{m}^2.\text{kg}^{-1}$), teneur en matière sèche (TMS F feuilles, G gaines, R racines $\text{g}.\text{kg}^{-1}$), épaisseur de la feuille (EP, 10^{-6} m), teneur en azote et en phosphore foliaire (N‰, P ‰ $\text{mg}.\text{g}^{-1}$ ms), Indice de chlorophylle (SPAD unités SPAD), vitesse de croissance (RGR, $\text{g}.\text{kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$), LAR ($\text{m}^2.\text{kg}^{-1}$), NAR ($\text{g} . \text{m}^{-2} . \text{j}^{-1}$).

| espèce | PST final (par plante) | S/R | R/S | TMSF | TMSG | TMSR | SSF | EP | N‰ | SPAD | P‰ | RGR | LAR | NAR |
|--------|---------------------------|------|------|------|------|------|------|-----|------|------|------|-----|------|------|
| Ac | 0.84 | 1,55 | 0,64 | 257 | 243 | 133 | 21,0 | 187 | 20,3 | 30,3 | 4,6 | 174 | 6,9 | 25,3 |
| Ao | 0.23 | 1,22 | 0,82 | 213 | 180 | 119 | 26,5 | 178 | 22,9 | 21,0 | 4,5 | 171 | 11,2 | 15,3 |
| Ae | 0.3 | 1,47 | 0,68 | 214 | 159 | 140 | 31,0 | 151 | 20,5 | 22,2 | 4,0 | 153 | 12,8 | 12,1 |
| Am | 0.30 | 1,80 | 0,55 | 223 | 182 | 114 | 20,9 | 215 | 24,8 | 42,6 | 7,5 | 172 | 9,0 | 19,2 |
| Bp | 0.22 | 1,64 | 0,61 | 303 | 229 | 161 | 20,3 | 163 | 21,6 | 34,6 | 4,2 | 124 | 8,6 | 14,4 |
| Bs | 0.27 | 1,82 | 0,55 | 287 | 238 | 174 | 35,5 | 98 | 23,7 | 19,1 | 6,2 | 146 | 12,2 | 11,6 |
| Bm | 0.22 | 1,95 | 0,51 | 315 | 251 | 154 | 15,8 | 202 | 26,3 | 40,9 | 7,5 | 107 | 6,2 | 17,4 |
| Dg | 0.25 | 1,92 | 0,52 | 216 | 193 | 126 | 23,4 | 264 | 18,3 | 27,0 | 4,8 | 169 | 8,7 | 26,1 |
| Fr | 0.21 | 1,37 | 0,73 | 306 | 243 | 151 | 11,6 | 464 | 23,3 | - | 5,9 | 134 | 4,5 | 29,8 |
| Fe | 0.21 | 2,42 | 0,41 | 312 | 235 | 142 | 13,6 | 389 | 25,7 | - | 4,5 | 124 | 6,6 | 19,2 |
| Hl | 0.5 | 1,24 | 0,81 | 144 | 115 | 126 | 47,3 | 148 | 24,7 | 21,8 | 10,4 | 194 | 16,0 | 12,1 |
| Lp | 0.56 | 1,26 | 0,80 | 176 | 176 | 124 | 26,5 | 216 | 17,5 | 24,2 | 4,5 | 213 | 9,2 | 23,1 |
| Lpc | 0.34 | 1,48 | 0,68 | 219 | 198 | 136 | 17,8 | 258 | 18,0 | - | 3,8 | 149 | 7,0 | 21,4 |
| Mc | 0.23 | 2,11 | 0,47 | 314 | 208 | 131 | 18,1 | 177 | 25,3 | 42,7 | 3,3 | 131 | 8,2 | 16,0 |
| Ns | 0.21 | 1,96 | 0,51 | 337 | 238 | 174 | 6,6 | 484 | 31,7 | - | 4,7 | 126 | 2,8 | 45,5 |
| Sd | 0.37 | 2,60 | 0,38 | 244 | 170 | 99 | 22,6 | 182 | 35,0 | 44,6 | 6,0 | 203 | 11,9 | 17,0 |

1.4.5. Relation RGR /réponse des traits à la carence

La **Figure 17** met en relation les variations de surface spécifique (SLA) et de TMS (LDMC) avec le RGR des espèces. Le RGR conditionnait l'intensité de la carence et les espèces à faible RGR présentent peu de variation. Dans les espèces à fort RGR, la diversité de réponse est beaucoup plus forte et montre la très faible sensibilité de la houlque et la très forte sensibilité du ray grass cultivé et de la fétuque rouge.

Figure 17. Ecart relatif ((trait des plantes carencées – trait des plantes bien alimentées) / trait des plantes bien alimentées) des traits foliaires selon les espèces, en fonction du RGR en conditions bien alimentées.



1.4.6. Traits physiologiques

Le RGR a été décomposé en deux composantes LAR (m^2 de surface foliaire kg^{-1} de matière sèche de plante) et NAR (g de ms élaborés. $\text{m}^{-2} \cdot \text{j}^{-1}$).

LAR : Les valeurs de LAR présentent de nombreuses différences entre espèces et sous l'effet de la carence en azote (**Figure 18**). Les valeurs obtenues en phytotron sont dans la gamme des valeurs présentées par Ryser et Wahl (2001) à l'extérieur. En accord avec l'action générale de l'azote sur la croissance foliaire, donc sur la surface foliaire, la carence en azote diminue significativement le LAR de toutes les espèces excepté la danthonie et la molinie.

NAR : Les NAR des fétuques et du nard particulièrement élevés (**Tableaux 13 et 18**) ont pu être biaisés par la morphologie (forme – finesse) des feuilles mal supportée par certains appareils. La sous-estimation des surfaces des feuilles de ces espèces lors de leur mesure peut expliquer les fortes valeurs obtenues. Pour les autres espèces, les valeurs de NAR sont dans

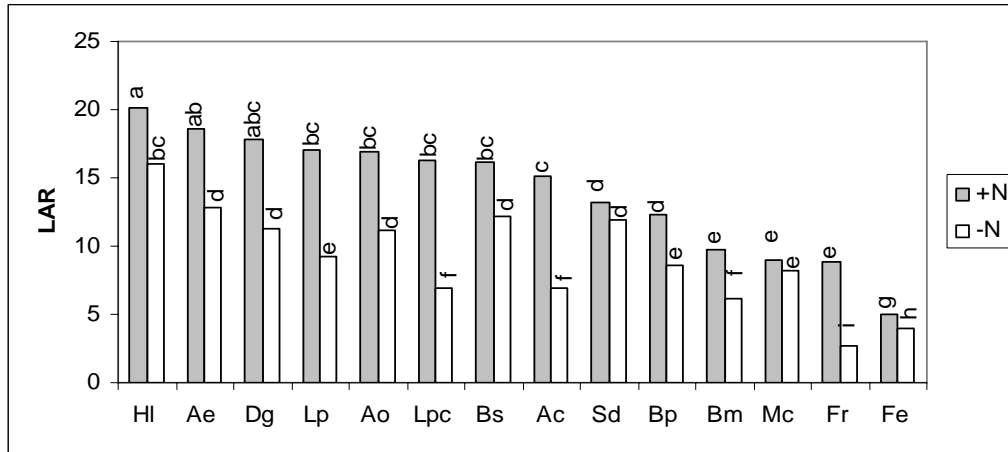


Figure 18. Evolution du ratio de surface foliaire par unité de matière sèche (LAR m²/ kg de plante) des espèces en fonction de la nutrition azotée.

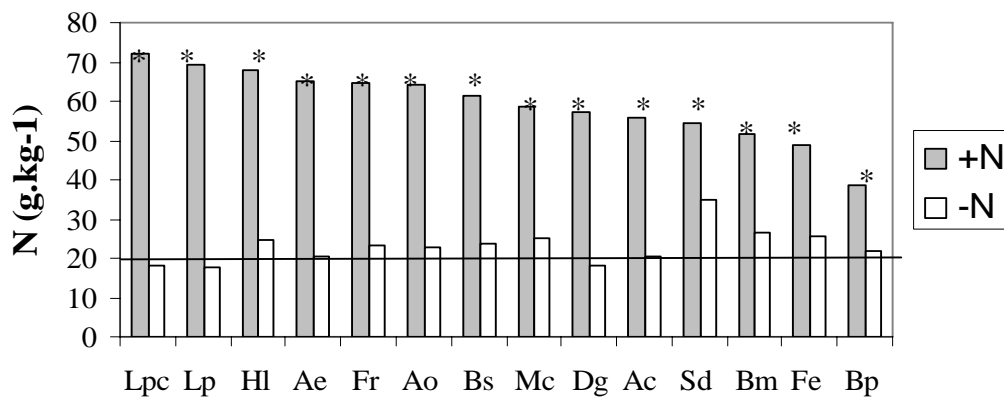


Figure 19. Evolution de la teneur en azote des espèces en fonction de la nutrition azotée.

* $P < 0.05$. Les espèces dont la teneur en azote est voisine ou inférieure à 20 g.kg⁻¹ (barre horizontale) sont celles qui ont montré une forte variation de surface spécifique foliaire (Figure 16).

La gamme de celles publiés pour des graminées ($6.5 - 18.2 \text{ g.m}^{-2} ; \text{j}^{-1}$, Ryser et Wahl 2001, Taub 2002).

Les différences de RGR sont expliquées par les différences de LAR : Quand les plantes se développent dans des conditions limitantes en azote, leur taux de croissance diminue, en grande partie en raison de la diminution de leur surface foliaire ce qui abaisse la surface de feuille par unité de masse sèche de plante (LAR) (Van der Werf, 1993b; Belanger *et al.*, 1994).

1.4.7. Teneur en azote foliaire

Les différences entre espèces sont explicitées dans l'**Annexe 5**. En milieu +N, les espèces *Lp*, *Lpc*, *Hl*, *Ae*, *Fr* ont des teneurs plus élevées que les espèces *Dg*, *Ac*, *Sd*, *Bm*, *Fe*, *Bp*. Les teneurs en azote du brachypode (*Bp*) sont particulièrement faibles. Les espèces *Ao* *Bs*, *Mc* sont intermédiaires entre les deux groupes précédents.

La carence en N diminue les teneurs foliaires de toutes les espèces. La teneur foliaire obtenue après 11 jours de carence est plus élevée chez les espèces à faible vitesse de croissance (*Fe*, *Bs*, *Bp*, *Mc*) et chez les espèces à forte vitesse de croissance dont la surface spécifique (SSF) a peu varié (*Hl*, *Bm*, *Am*, *Sd*). Ces résultats suggèrent un effet de seuil dans la relation azote SSF pour une valeur apparente N voisine de $20 \text{ g.kg}^{-1} \text{ ms}$ (**Figure 19**). La teneur en chlorophylle mesurée au chlorophyll-meter (Minolta, Japon) est mal corrélée à la teneur en azote : la mesure est influencée par l'épaisseur et la pilosité de la feuille qui diffèrent entre les espèces.

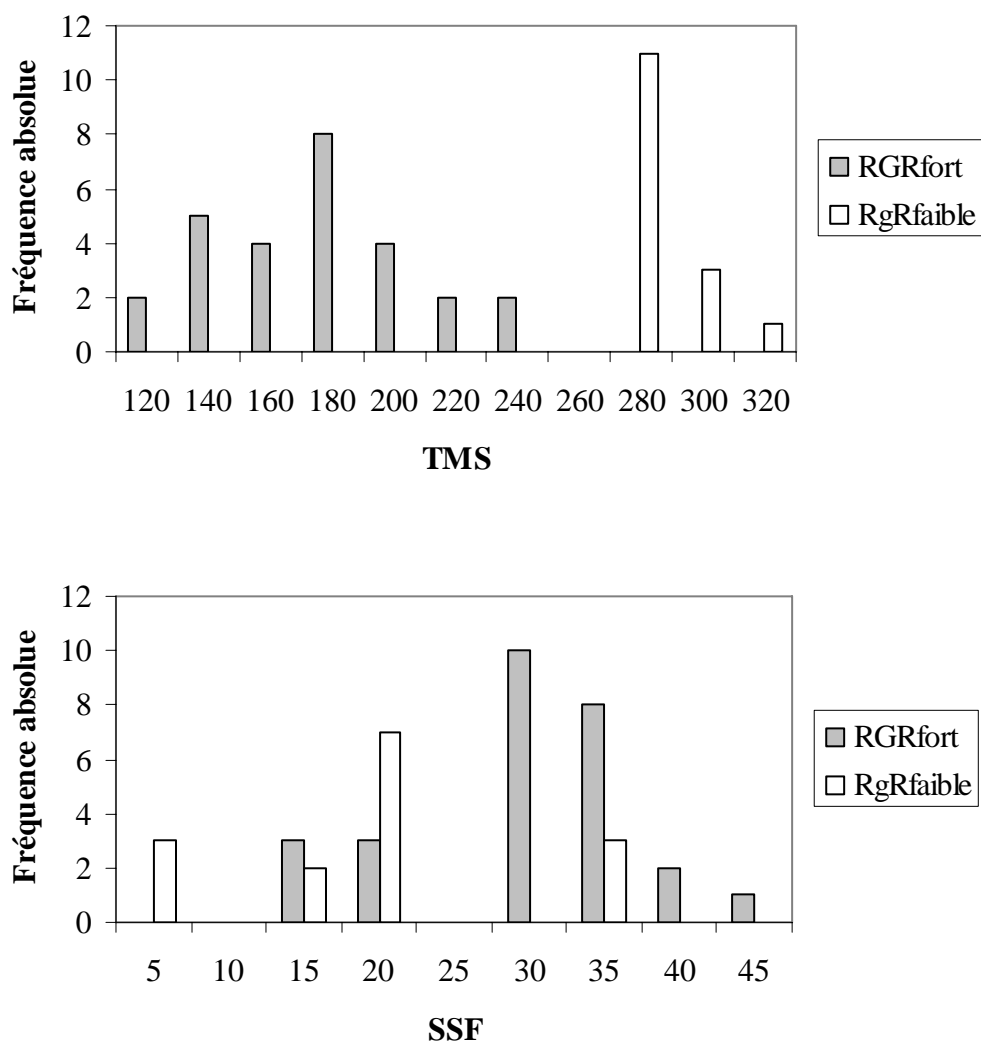


Figure 20. Histogrammes de fréquence de la teneur en matière sèche (TMS) et de la surface spécifique foliaire (SSF) mesurées en phytotron pour les espèces à fort RGR (27 valeurs correspondant à 9 espèces ou cultivars) et les espèces à faible RGR (15 valeurs correspondant à 5 espèces).

1.5. Conclusion

L'expérimentation sur les traits mesurés en phytotron et en solution nutritive a été mise en place d'abord pour obtenir des valeurs de taux de croissance (RGR) qui n'étaient pas connues. A l'occasion de cette culture, les traits des graminées des prairies acides des Pyrénées ont été mesurés et comparés aux valeurs obtenues en plein champs pour examiner la stabilité du classement de ces espèces par rapports aux traits foliaires. Enfin, avant de récolter l'essai on a introduit une courte période de carence en azote pour évaluer la réponse de ces espèces à ce stress. Ceci a permis de confirmer ou nuancer la préférence des espèces pour des habitats plus ou moins riches en azote.

En l'absence de facteurs limitant (stress hydrique, nutrition minérale, stress mécaniques,...), la vitesse de croissance des graminées ($r = 0.94$) et leur teneur en azote ($r = 0.80$) sont presque complètement expliquées par la teneur en matière sèche. Les espèces à faible vitesse de croissance, ont une forte teneur en matière sèche et une forte épaisseur de limbe. Les espèces à forte vitesse de croissance, montrent une faible teneur en matière sèche et une forte surface spécifique foliaire. La corrélation entre les traits (TMS, SSF) observés en plein champ, en collection et au phytotron est assez bonne, meilleure pour la teneur en matière sèche que pour la surface spécifique foliaire.

Malgré la variation des facteurs de croissance (nutrition minérale plus élevée et flux inférieurs de photons) dans le phytotron par rapport à l'extérieur, la TMS est assez robuste pour classer les espèces et être utilisée comme un indicateur. Par rapport à la surface spécifique foliaire, la teneur en matière sèche distingue mieux les groupes d'espèces (**Figure 20**). Les TMS étant différentes en phytotron et en champ, il est raisonnable de classer les espèces en valeur relative par rapport à d'autres espèces plutôt que par rapport à une valeur repère de teneur en matière sèche.

Les espèces d'environnements fertiles (stratégie de capture de ressources) ont une réponse de croissance à l'azote plus élevée que les espèces trouvées dans les environnements peu fertiles (stratégie de conservation de ressources). La surface spécifique foliaire et le rapport PA/R des espèces de stratégie de capture sont diminués par la carence d'azote. Quand l'espèce a une faible vitesse de croissance (*Bm, Bp, Bs, Ns, Fe, Mc*), l'impact de la carence en N est évidemment moindre. La carence en N diminue les teneurs foliaires avec quelques variations selon les espèces. Face à cette carence, la plupart des espèces à faible RGR (N+) ont conservé des teneurs foliaires plus élevées, en raison de leur besoin de croissance plus faible. A l'opposé, les espèces à fort RGR (N+) réduisent fortement leurs teneurs en azote foliaire. Ceci confirme que la teneur en azote mesurée dans des conditions expérimentales définies traduit les différences dans la stratégie de conservation de cet élément nutritif par les groupes d'espèces à fort ou faible RGR.

Pour les espèces à limbe plat, les différences de RGR sont expliquées par des différences de LAR. Dans les espèces à fort RGR, la diversité de réponse à l'azote est plus grande. La danthonie cultivée en solution nutritive et en phytotron a présenté une vitesse de croissance élevée et une très faible sensibilité à une carence en azote. La faible réponse de *A. elatius*, *A. odoratum* et *H. lanatus* et *S. decumbens* pourrait s'expliquer par une meilleure remobilisation de l'azote des racines et des tiges chez ces espèces.

Tableau 19. Comparaison de l'activité de Al sur deux séries d'échantillons (Laboratoire Arvalis : premier pH eau - Autres données : Laboratoire du CIRAD – AMIS, Montpellier. Logiciel Soilchem, Sposito et Coves, 1998). Codes : T0 = témoin, T1 = apport d'engrais NPK, T4 modalité chaulée $\text{CaCO}_3 + \text{CaSO}_4 + \text{NPK}$. Horizons A profondeur 0 – 5 cm, B profondeur 5- 10 cm.

| Echantillons 2004 analysés en 2005 | T0 A | T0 B | T1 A | T1 B | T4 A | T4 B |
|---|-------|-------|-------|------|-------|------|
| pH à l'eau du sol en 2004 – Arvalis | 5.2 | 4.9 | 4.6 | 4.8 | 5.5 | 4.8 |
| pH de la solution du sol en 2005 | 5.25 | 4.31 | 6.13 | 5.90 | 6.90 | 6.09 |
| Al total en solution $\mu\text{mol/l}$ | 208.1 | 55.0 | 208.9 | 57.5 | 239.9 | 58.9 |
| Al libre $\mu\text{mol/l}$ | 49.51 | 38.49 | 0.92 | 0.92 | 0.00 | 0.29 |
| Coef. Activité | 0.46 | 0.61 | 0.49 | 0.63 | 0.46 | 0.61 |
| Activité de Al $\mu\text{mol/l}$ | 22.60 | 23.40 | 0.45 | 0.58 | 0.00 | 0.18 |

| Echantillons 2005 analysés en 2005 | T0 A | T0 B | T1 A | T1 B | T4 A | T4 B |
|---|------|------|-------|------|------|------|
| pH à l'eau du sol en 2005 - Arvalis | 4.7 | 4.8 | 4.6 | 4.6 | 4.9 | 4.7 |
| pH de la solution du sol en 2005 | 4.69 | 4.73 | 4.49 | 4.54 | 4.86 | 4.71 |
| Al total en solution $\mu\text{mol/l}$ | 40.7 | 10.2 | 25.7 | 15.5 | 23.4 | 10.5 |
| Al libre $\mu\text{mol/l}$ | 1.60 | 2.83 | 14.62 | 7.25 | 9.40 | 5.74 |
| Coef. Activité | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 |
| Activité de Al $\mu\text{mol/l}$ | 0.81 | 1.43 | 7.38 | 3.66 | 4.74 | 2.90 |

2. Réponse au chaulage et aux engrais d'une prairie de sol acide

En l'absence de données dans la zone pyrénéenne, nous avons étudié un essai de longue durée mis en place en 1998 par la Chambre d'Agriculture de l'Ariège par Y. Rauzy et P. Castillon (Arvalis). Cet essai permet d'analyser la réponse d'une prairie naturelle en sol acide suite à l'apport d'engrais (NPK) et à l'apport de carbonate de calcium (CaCO_3) ainsi qu'à l'effet combiné de ces deux pratiques. Nous avons complété l'analyse agronomique de l'essai en apportant des éléments d'interprétation du sol et de la réponse de la plante : CEC à la cobaltihexamine, Al échangeable, (**Tableau 9** p 48), activité de Al dans la solution du sol, (**Tableau 19**), détermination de la flore, des abondances et des traits foliaires des graminées présentes, évaluation de la biomasse de racines. L'effet des traitements sur la végétation de graminées a été analysé en passant des traits des espèces à des traits pondérés calculés à la parcelle. Les résultats ont été comparés à la classification en types d'usage (A, B, C, D ; Ansquer *et al.*, 2004).

2.1. Activité de Al dans la solution du sol

Deux séries d'échantillons de sols prélevés en 2004 et 2005 dans des traitements contrastés (témoin, 1 = NPK, 4 = NPK + CaCO_3 34 % + CaSO_4 66 %) et séchés à l'air ont été analysés en 2005 au laboratoire d'analyse des sols du CIRAD. L'analyse a porté sur les caractéristiques agronomiques usuelles (éléments échangeables à l'acétate d'ammonium 1 N, **Tableau 9** p 47) et sur la composition de la solution du sol après réhumectation. L'analyse détaillée de la solution du sol figure en **Annexe 7**. Les résultats concernant Al sont résumés dans le **Tableau 19**. Les deux séries d'analyses donnent des résultats différents.

Sur la série d'échantillons la plus ancienne (2004) les concentrations en Al total solubles sont de l'ordre de 210 μM dans l'horizon A et de 60 dans l'horizon B (**Tableau 19**). L'aluminium libre varie entre 0 et 50 μM selon le pH de la solution du sol. L'activité de Al est inférieure à 1 μM dans les traitements fertilisés et fertilisés et chaulés. Ces valeurs sont expliquées par le pH de la solution du sol des traitements fertilisés qui est plus élevé après réhumectation que le pH attendu (mesuré dans un autre laboratoire) d'environ une unité. Le pH du témoin, acide et comparable au pH attendu, permet une activité de l'aluminium élevée (23 μM).

Sur la série d'échantillons la plus récente (2005) la cohérence des résultats de pH eau entre laboratoires est très correcte. Les concentrations d'Al total sont plus faibles, de l'ordre de 10 à 40 μM , les concentrations en Al libre varient entre 1 et 15 μM et l'activité de Al de 1 à 7 μM . Elle est plus forte dans les traitements fertilisés que chez le témoin. Les résultats obtenus

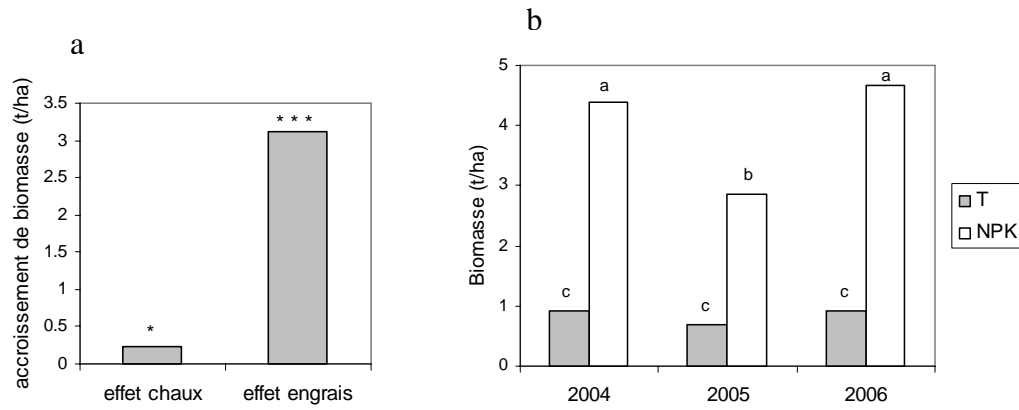


Figure 21. Effets des traitements sur la biomasse à la première coupe (t / ha). **a** comparaison des effets chaux et engrais (moyennes des 3 années : * P 0.05, *** P 0.001). **b** effet engrais inter-annuel.

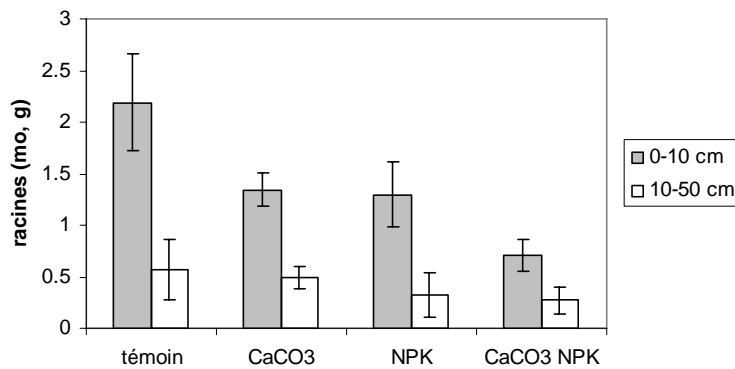


Figure 22. Evaluation de la biomasse de racines (mo = matière organique, en g) dans le sol (0- 10 cm) et le sous sol (10 – 50 cm) selon les traitements. (les barres représentent \pm l'erreur standard ; les différences entre traitements ne sont pas significatives : facteur engrais P = 0.099, profondeur 0 – 10 cm ; facteur engrais P = 0.097, profondeur 10 – 50 cm).

sont donc contradictoires. La qualité des analyses a pu être influencée en 2004 par la quantité de sol disponible jugée faible par le laboratoire. La variation du pH montre cependant que la plus longue durée de conservation du sol avait modifié les caractéristiques chimiques. En 2005, la quantité d'échantillons était suffisante, la conservation du sol séché à l'air plus courte (<1mois). Les résultats (valeur médiane de l'activité de Al dans l'horizon B 3 μM) semblent plus en accord avec l'ordre de grandeur de la résistance des plantes qui poussent sur ces prairies (molinie, houlque, fétuque).

Ces résultats suggèrent que la technique habituelle de prélèvement des sols n'est pas adaptée à l'évaluation de l'activité de Al dans la solution du sol. Il aurait probablement fallu développer un protocole de prélèvement et une analyse spécifique du sol frais à l'humidité au champ ou conservé en glacière (Falkengren-Grerup *et al.*, 1995) et tenir compte de la complexation par les anions organiques issus de la matière organique du sol. Celle ci n'est pas prise en compte de le calcul de l'activité de Al présenté au tableau 19 ; elle est susceptible de réduire encore la toxicité de Al, au moins dans les horizons supérieurs riches en matière organique.

2.2. Production de biomasse

Sur les trois années étudiées, il n'y a pas d'interaction engrais x chaux. L'effet du chaulage sur la biomasse à la première coupe est significatif mais modeste (+ 10 %). L'effet fertilisation est plus fort : la biomasse est multipliée en moyenne par 4.7 (**Figure 21 a**). L'interaction engrais x année est significative, avec une biomasse plus faible en année sèche (2005, **Figure 21 b**). Les résultats sont comparables à ceux obtenus par Curtin et Smillie (1986b) sur les sols du site *Lyons* : sans fertilisation, la croissance est très faible ; avec fertilisation, sans correction du pH du sol (NPK) le rendement est élevé ; la différence avec les résultats de Curtin et Smillie est que le chaulage a ici un effet faible mais significatif. La pauvreté du sol de cette prairie (P Olsen = 6.5 ppm, Tableau11) explique l'effet spectaculaire de la fertilisation. Le faible effet du chaulage peut être expliqué de différentes façons: une faible toxicité de l'aluminium, la présence d'espèces adaptées à l'acidité et capables de supporter la toxicité de Al, le caractère limitant de l'alimentation en P.

Biomasse de racines

On a conservé deux blocs donnant des valeurs comparables (Bloc 1 et Bloc 3 - Plan factoriel NPK x CaO en bloc, - 2 répétitions, **Figure 22**). Le nombre de répétitions étant faible; l'effet des traitements sur la biomasse de racines n'est pas significatif et se situe au niveau d'une tendance : la chaux et l'engrais tendent à réduire la biomasse de racines dans le sol ($P < 0.099$,

Figure 22). Cet effet est conforme à ce que l'on peut attendre de l'enrichissement d'un sol. Les résultats ne vont pas dans le sens de l'hypothèse de Miranda et Rowell (1987) et Mc Laughlin et James (1991) d'un effet positif de la fertilisation P sur la croissance des racines dans le sous sol, mais leur imprécision empêche de conclure.

2.3. Occurrence des graminées dans les différents traitements :

Une notation de présence – absence (**Tableau 20**) montre que les traitements témoin et CaCO₃ présentent le plus grand nombre d'espèces de graminées (6) ; les traitements comportant une fertilisation (NPK et NPK + CaCO₃) diminuent le nombre d'espèces (4 espèces en moyenne). *M. caerulea*, *H. sulcatum* sont indifférentes aux variations de pH et de fertilité, *S. decumbens* disparaît dans les traitements NPK, *H. lanatus* apparaît dans les traitements NPK. Les espèces *F. rubra*, *A. capillaris* et *B. pinnatum* présentent un comportement plus complexe.

2.4. Abondance des espèces

Dans le témoin marqué par un sol pauvre et acide, il n'y a pas d'espèces de type C excepté la fétuque rouge et l'agrostis (**Tableau 21**). Dans le traitement chaulé, le même jeu d'espèces est conservé avec un peu moins de fétuque et d'agrostis. Le traitement NPK sélectionne des espèces à fort RGR (Ac et HI), favorise la molinie et diminue le brachypode. Par rapport au traitement NPK, le traitement NPK + CaCO₃ fait disparaître la houlque et diminuer l'abondance des graminées. L'abondance des dicotylédones et celle du carex augmentent très légèrement (2 %). Par rapport à la classification proposée par Ansquer *et al*, 2004, on observe que le traitement NPK améliore probablement la qualité du fourrage de graminées en augmentant la proportion d'espèces de type C ou A. Les graminées ne représentent que 26 % des espèces présentes dans le traitement CaCO₃ + NPK. Dans les autres traitements le taux est voisin de 50 %. Une approche plus détaillée devrait donc prendre en compte les autres espèces, dicotylédones et légumineuses (**Annexe 4**).

Tableau 20. Présence des espèces dans les différents traitements (5 / 07 / 2004)

| | Bloc | MOLCAE | AVEMAR | FESRUB | DANDEC | AGRCAP | BRAPIN | DACGLO | HOLLAN |
|--------------------------|------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| témoin | 1 | * | * | * | * | * | * | | |
| témoin | 2 | * | * | * | * | * | * | | |
| témoin | 3 | * | * | * | * | * | * | | |
| NPK | 1 | * | * | | | * | | | * |
| NPK | 2 | * | * | | | * | | | * |
| NPK | 3 | * | * | | | * | | | * |
| Ca CO ₃ | 1 | * | * | * | * | | * | | |
| Ca CO ₃ | 2 | * | * | * | * | | * | | |
| Ca CO ₃ | 3 | | * | * | * | | * | | |
| NPK + Ca CO ₃ | 1 | * | * | * | * | * | * | * | * |
| NPK + Ca CO ₃ | 2 | * | * | * | * | * | * | | * |
| NPK + Ca CO ₃ | 3 | * | * | * | * | * | * | | * |

probabilité

0.016

0.109

disparition d'espèce

apparition d'espèce



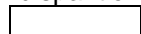
en présence de NPK



en présence de NPK



aléatoire



en sol acide + NPK



en sol neutre

Tableau 21. Abondance relative des graminées (juin 2005).

| Traitement | espèce | type | Bloc I | Bloc II | Bloc III | moyennes |
|-------------------------|----------------------|------|--------|---------|----------|----------|
| Témoin | <i>F. rubra</i> | C | 17.3 | 13.1 | | |
| | <i>M. caerulea</i> | D | 8.7 | 14.7 | 4.7 | |
| | <i>S. decumbens</i> | D | 7.9 | 10.3 | 8.4 | |
| | <i>H. sulcatum</i> | D | 4.7 | 11.2 | 12.1 | |
| | <i>A. capillaris</i> | C | 3.9 | 5.6 | | |
| | <i>B. pinnatum</i> | D | | 19.6 | 20.6 | |
| | total | | 42.5 | 74.4 | 45.8 | |
| CaCO ₃ | <i>B. pinnatum</i> | D | 27.8 | 25.0 | 28.1 | |
| | <i>F. rubra</i> | C | 12.2 | 8.0 | 10.4 | |
| | <i>M. caerulea</i> | D | 5.2 | 5.4 | | |
| | <i>H. sulcatum</i> | D | 4.3 | 3.6 | 5.2 | |
| | <i>S. decumbens</i> | D | 4.3 | | 4.2 | |
| | <i>A. capillaris</i> | C | | 3.6 | | |
| | total | | 53.9 | 45.5 | 47.9 | |
| NPK | <i>A. capillaris</i> | C | 43.9 | 12.6 | | |
| | <i>M. caerulea</i> | D | 12.2 | 26.3 | 9.7 | |
| | <i>B. pinnatum</i> | D | | 16.8 | 6.5 | |
| | <i>H. lanatus</i> | A | | | 21.0 | |
| | total | | 56.1 | 55.8 | 37.1 | |
| CaCO ₃ + NPK | <i>A. capillaris</i> | C | 6.6 | | 15.4 | |
| | <i>M. caerulea</i> | D | | 27.8 | 6.4 | |
| | <i>B. pinnatum</i> | D | | 8.3 | 14.1 | |
| | total | | 6.6 | 36.1 | 35.9 | |

2.5. Traits pondérés à la parcelle

Il n'est pas possible d'évaluer par analyse de variance l'effet des traitements sur les traits foliaires des espèces, car les seules espèces présentes (à des abondances différentes) dans tous les traitements testés sont *Ac*, *Bp* et *Mc*. Pour avoir une vue plus générale, les abondances des graminées ont été transformées en abondances relatives (AR) des graminées entre elles. Ensuite la mesure des traits foliaires des différentes graminées présentes dans les traitements a été pondérée par l'abondance relative (AR) de chaque graminée selon l'exemple ci-dessous :

$$\text{TMS (NPK, Bloc } j) = \sum_{(i,j)} (\text{TMS (Espèce } i, \text{ Bloc } j) * \text{AR (Espèce } i, \text{ Bloc } j))$$

Le résultat donne ainsi un profil de trait foliaire pour une graminée synthétique résumant l'ensemble des graminées présentes. Cette méthode permet d'évaluer l'effet global des traitements sur cette graminée synthétique. Le chaulage n'a pas d'effet sur les traits de la graminée synthétique (**Tableau 22**). Par contre la fertilisation modifie significativement tous les traits : elle diminue la TMS et l'épaisseur de la feuille et augmente la surface spécifique SSF, ce qui va dans le sens d'un fourrage de meilleure qualité (Al Haj Khaled *et al.*, 2006).

2.6. Indices de nutrition IN IP IK

Le chaulage n'a pas d'effet significatif sur la nutrition en N, P et K. Il pourrait avoir amélioré légèrement la nutrition en phosphore (*P 0.14* : IP chaulé = 0.70, IP non chaulé 0.62). Les engrais (NPK) améliorent considérablement la nutrition en N, P et K de la prairie. Cependant les indices N et P continuent à indiquer une nutrition insuffisante (IN = 0.66, IP = 0.75 ; IK = 0.98 ; **Figure 23**). Curtin et Smillie ont proposé pour le site de Lyons en Irlande, que la nutrition en P explique la résistance à l'acidité et à la toxicité de Al. Les graminées cultivées sur le sol de Lyons présentaient un rapport N/P faible (4.3 – 4.8) qui allait dans le sens d'une nutrition en P très élevée. Dans le traitement NPK à Massat, les rapports N/P sont un peu plus élevés (moyenne 10.3, **Tableau 23**). Ils indiquent une nutrition en P plus faible qu'à Lyons, mais non limitante (N/P < 14 N limitant ; Aerts et Chapin, 2000). L'effet atténuateur du phosphore sur la toxicité de Al semble donc un peu moins fondé à Massat que dans le sol de Lyons mais il n'est pas exclus. Pour interpréter des résultats du type de ceux obtenus en plein champ à Massat, il serait nécessaire d'étudier l'effet du phosphore indépendamment de celui de N et K.

Tableau 22. Effet des traitements sur les traits pondérés mesurés à Massat (2004)

(parcelle traitement 3 bloc 2 éliminée à cause de l'ombrage). Les différences dues à l'effet engrais sont signalées par les lettres a et b, P 0.05.

TMS Foliaire (mg. kg⁻¹)

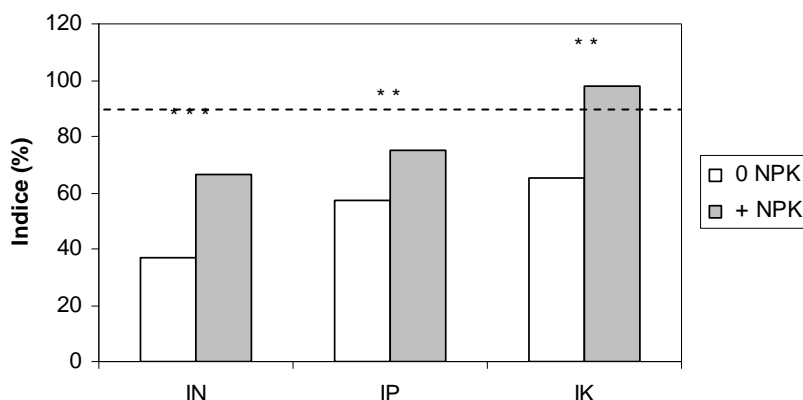
| | 0 NPK | + NPK | moyenne |
|----------------------|--------------|--------------|---------|
| 0 Ca CO ₃ | 334 | 279 | 307 ns |
| + CaCO ₃ | 333 | 274 | 303 ns |
| moyenne | 333 a | 277 b | |

Surface spécifique foliaire (SSF m². kg⁻¹)

| | - NPK | + NPK | moyenne |
|----------------------|---------------|---------------|---------|
| - Ca CO ₃ | 16.8 | 22.9 | 19.9 ns |
| + CaCO ₃ | 17.1 | 28.9 | 23.0 ns |
| moyenne | 17.0 a | 25.9 b | |

Epaisseur de la feuille (EP g mf. m⁻² ~ μ)

| | - NPK | + NPK | moyenne |
|----------------------|----------------|----------------|----------|
| - Ca CO ₃ | 195.0 | 163.0 | 179.0 ns |
| + CaCO ₃ | 186.8 | 119.7 | 153.2 ns |
| moyenne | 190.9 a | 141.3 b | |

**Figure 23.** Effet moyen (3 ans, chaulé et non chaulé) de la fertilisation sur les indices de nutrition. Le pointillé représente la limite en dessous de laquelle la nutrition est insuffisante.**Tableau 23.** Comparaison des nutritons en N et P mesurées à Massat et dans l'essai de Curtin et Smillie (1986b) sur le sol de Lyons.

| | | N/P | P % |
|-------|---------|-----------|-----------|
| NPK | 2004 | 10.1 | 0.28 |
| | 2005 | 11.4 | 0.18 |
| | 2006 | 9.3 | 0.16 |
| | moyenne | 10.3 | 0.21 |
| Lyons | | 4.3 - 4.8 | 0.27-0.28 |

2.7. Conclusion

L'effet élevé de la fertilisation s'explique par la pauvreté du sol de Massat. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer le faible effet du chaulage :

- une faible toxicité de l'aluminium,
- la présence d'espèces adaptées à l'acidité et capables de supporter la toxicité de Al,
- le caractère limitant de l'alimentation en P.

Les résultats obtenus pour les teneurs en P et pour la biomasse de racine suggèrent que l'hypothèse de l'effet atténuateur du phosphore sur la toxicité de Al est moins évidente à Massat que dans d'autres essais. Il semble nécessaire d'étudier P indépendamment des autres éléments nutritifs. La fertilisation (NPK et NPK + CaCO₃) diminue le nombre d'espèces et améliore la qualité du fourrage de graminées en augmentant la proportion d'espèces de type C ou A par rapport aux espèces D. La TMS pondérée et l'épaisseur de feuille pondérée diminuent ; la SSF augmente.

3. Etude de la réponse spécifique en culture sur sol en pot

L'essai de Massat est limité aux espèces naturellement présentes dans les parcelles, considérées en mélange. L'essai en pot que nous avons mis en place a pour but : (i) de préciser la réponse de chacune de ces espèces individuellement, (ii) d'évaluer la réponse d'espèces plus productives, non présentes dans l'essai de Massat. Pour faciliter la comparaison entre l'essai de plein champ et l'essai en pot, la culture des espèces en pot a été réalisée sur la terre du sous sol de l'essai de Massat (Matériel et méthodes **Tableau 11** p 51). Le choix de la terre du sous sol est destiné à exagérer les caractères acide et pauvre. Les traitements étudiés sont Témoin, +N, +P, +N +P, +CaO et CaO +NP.

3.1. Effet des traitements sur le pH du sol

Le pH du sol s'est acidifié en cours d'expérience: le pH du sol témoin a diminué de pH 5.1 à pH 4.1 (**Tableau 24**). Les traitements fertilisés (+N, +P, +NP) ont été plus stables entre pH 4.5 et pH 4.1. Les traitements chaulés ont perdu environ une unité pH entre le début (pH 5.9 – 6.0) et la fin de l'expérience (4.9- 4.7).

3.2. Vue d'ensemble de l'effet des traitements

Les valeurs moyennes rassemblées dans le **Tableau 25** montrent l'effet général des traitements: nous interprétons l'effet azote négatif dans ce sol acide par l'apport d'une fraction de l'azote sous forme NH_4^+ et par l'acidité que l'absorption et/ou la nitrification de NH_4^+ génèrent dès le début de l'expérience (**Tableau 24**, pH 4.4 vs 5.1). Cette acidité peut avoir renforcé la toxicité de Al. Dans le traitement NP l'ammonium joue probablement encore un rôle négatif. Le traitement CaO représente l'effet de la chaux seule : il améliore légèrement la croissance des espèces. Le traitement P démontre le manque de P; il peut aussi intégrer une diminution de la toxicité de Al sous l'effet de la fertilisation phosphatée. Le traitement CaO + NP montre l'effet de l'apport de N et P quand l'acidification due à l'ammonium est contrecarrée par la chaux ; il donne en général la production de matière sèche la plus élevée.

3.3 Réponse des espèces présentes à Massat

Les espèces *A. capillaris*, *S. decumbens* ont poussé de façon satisfaisante. Les espèces *B. pinnatum* et *H. sulcatum* ont donné des croissances trop variables pour être analysées. Pour *F. rubra*, et *M. caerulea* la mauvaise germination des semences n'a pas permis de réaliser tous les traitements (**Tableau 25**). Nous présenterons donc d'abord une analyse de la variance sur les quatre traitements suivants : Témoin, CaO, NP et CaO +NP.

Tableau 24. Variations du pH du sol entre le début et la fin de l'essai en pot pour les différents traitements.

| | T | N | CaO | NP | P | CaO + NP |
|---------------------------------|------|------|------|------|------|----------|
| pH après traitement (n=5) | 5.1 | 4.4 | 5.9 | 4.5 | 4.4 | 6.0 |
| se | 0.08 | 0.04 | 0.13 | 0.05 | 0.09 | 0.22 |
| pH à la fin de l'essai (n=5) | 4.1 | 4.1 | 4.9 | 4.1 | 4.1 | 4.7 |
| se | 0.04 | 0.06 | 0.06 | 0.11 | 0.04 | 0.06 |

Tableau 25. Synthèse des masses sèche moyennes (mg) des parties aériennes par plante et par traitement

| | Témoin | N | CaO | NP | P | CaO + NP |
|-----------|--------|-------|------|-------|-------|----------|
| <i>Ac</i> | 128 | 37 | 200 | 434 | 546 | 768 |
| <i>Bp</i> | 16 | -- | 79 | 110 | -- | 113 |
| <i>Bs</i> | 12 | 10 | 92 | 78 | 71 | 280 |
| <i>Dg</i> | 21 | 20 | 74 | 158 | 169 | 277 |
| <i>Fr</i> | 507 | 311 | 244 | 656 | -- | 1008 |
| <i>Hl</i> | 91 | 51 | 136 | 267 | 264 | 416 |
| <i>Hs</i> | 284 | 354 | 299 | 379 | 493 | (1055) |
| <i>Lp</i> | 56 | 24 | 114 | 199 | 238 | 408 |
| <i>Mc</i> | 75 | -- | 91 | 419 | -- | 393 |
| <i>Sd</i> | 134 | 85 | 121 | 359 | 359 | 357 |
| moyenne | 132 | 99 | 145 | 306 | 306 | 507 |
| se | 154.5 | 138.8 | 76.7 | 177.9 | 171.2 | 321.9 |

() : forte variabilité des données

3.3.1. Réponse des espèces présentes à Massat aux traitements T, NP, CaO, CaO NP

Pour les quatre espèces présentes à Massat l'effet de la chaux seule (CaO) est non significatif ou négatif (*F. rubra*) par rapport au témoin (**Figure 24**). L'effet fertilisation (NP, CaO + NP) est toujours plus fort que l'effet chaux. Enfin, la combinaison CaO + NP augmente la biomasse de *A. capillaris* et *F. rubra* mais pas celle de *M. caerulea* et *S. decumbens*. Le fait que les espèces de l'essai de Massat ne répondent pas positivement à la correction de l'acidité seule (+ CaO) suggère qu'elles sont adaptées à l'acidité et à la toxicité de Al. La forte réponse à la fertilisation confirme la pauvreté du sol. La réponse observée en pot est donc relativement voisine de la réponse observée en plein champ : petit effet chaux, effet fertilisant supérieur à l'effet chaux.

3.3.2. Réponse des espèces à forte productivité absentes (*L. perenne*, *D. glomerata*) ou peu présentes (*H. lanatus*) à Massat

Comme précédemment on note un fort effet engrais. Cependant, contrairement au cas précédent, il y a aussi un effet positif et significatif de la chaux même sans fertilisation (CaO, **Figure 25**). L'effet plus important du chaulage sur la croissance de *L. perenne* par rapport aux espèces présentes à Massat (*A. capillaris*, *F. rubra*, *M. caerulea*, *S. decumbens*) est en accord avec les résultats de Curtin et Smillie (1986) sur la comparaison *L. perenne* - *A. capillaris* dans le sol de Deerpark et avec ceux de Pinto *et al.*, (1995) sur le sol de Derio. On peut remarquer que la population de *H. lanatus* testée ici a un comportement analogue à celui des espèces non résistantes à Al (*D. glomerata* et *L. perenne*).

Globalement les espèces absentes ou peu présentes à Massat montrent un indice de réponse à la chaux plus élevé que celui des espèces présentes (CaO indice 1.9 – 2.3 vs 0.5 – 1.5 ; **Tableau 26**). De même l'augmentation de la production par l'association CaO + NP semble un peu plus importante avec les espèces non présentes à Massat (indice 4.8 – 9.0 vs 2.0- 5.9).

Tableau 26. Vue d'ensemble de la réponse (MSPA g/pl) des espèces présentes et non présentes à Massat aux traitements chaux et engrais.

| | Témoin | indice | CaO | indice | NP | indice | CaO +NP | indice |
|----------------------|--------|--------|------|--------|------|--------|---------|--------|
| <i>D. glomerata</i> | 0.03 | 1 | 0.07 | 2.3 | 0.17 | 5.7 | 0.27 | 9.0 |
| <i>L. perenne</i> | 0.05 | 1 | 0.11 | 2.2 | 0.19 | 3.8 | 0.39 | 7.8 |
| <i>H. lanatus</i> | 0.08 | 1 | 0.15 | 1.9 | 0.25 | 3.1 | 0.38 | 4.8 |
| <i>A. capillaris</i> | 0.13 | 1 | 0.20 | 1.5 | 0.43 | 3.3 | 0.77 | 5.9 |
| <i>F. rubra</i> | 0.51 | 1 | 0.24 | 0.5 | 0.66 | 1.3 | 1.01 | 2.0 |
| <i>M. caerulea</i> | 0.08 | 1 | 0.09 | 1.1 | 0.42 | 5.3 | 0.39 | 4.9 |
| <i>S. decumbens</i> | 0.13 | 1 | 0.12 | 0.9 | 0.36 | 2.8 | 0.36 | 2.8 |

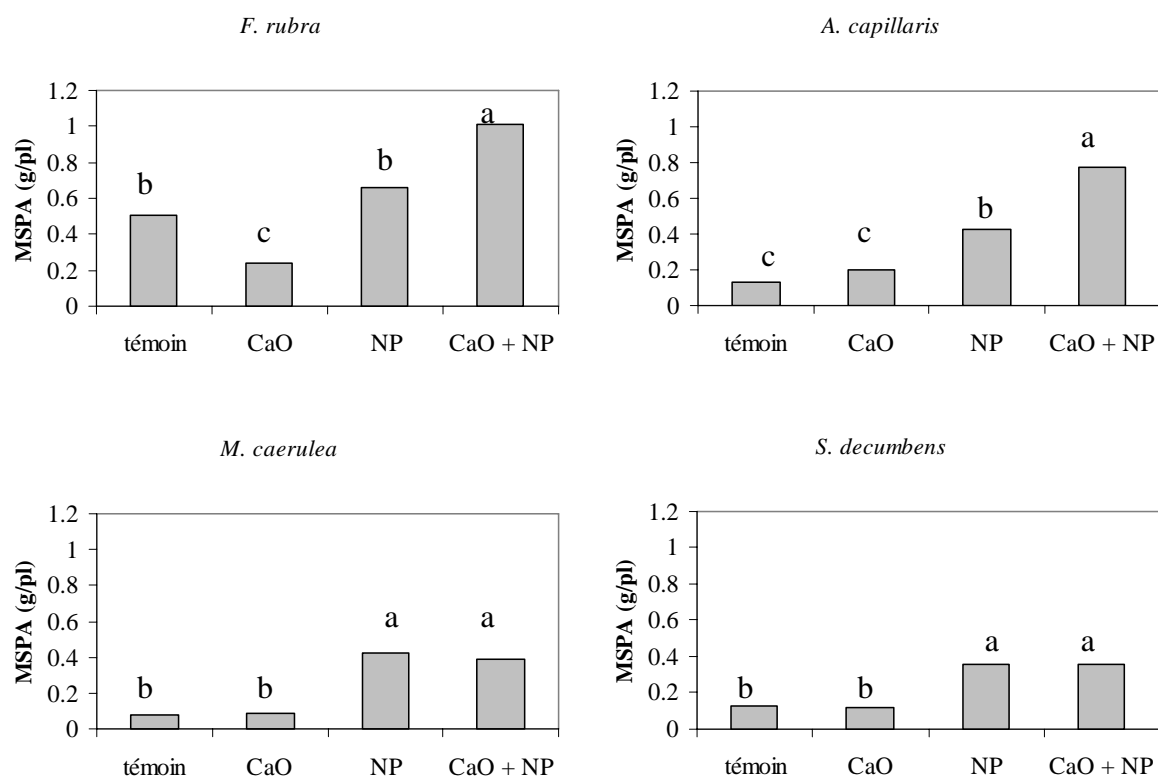


Figure 24. Effets des traitements sur la matière sèche des parties aériennes (MSPA) des espèces présentes à Massat. Les lettres signalent des différences significatives à P 0.05.

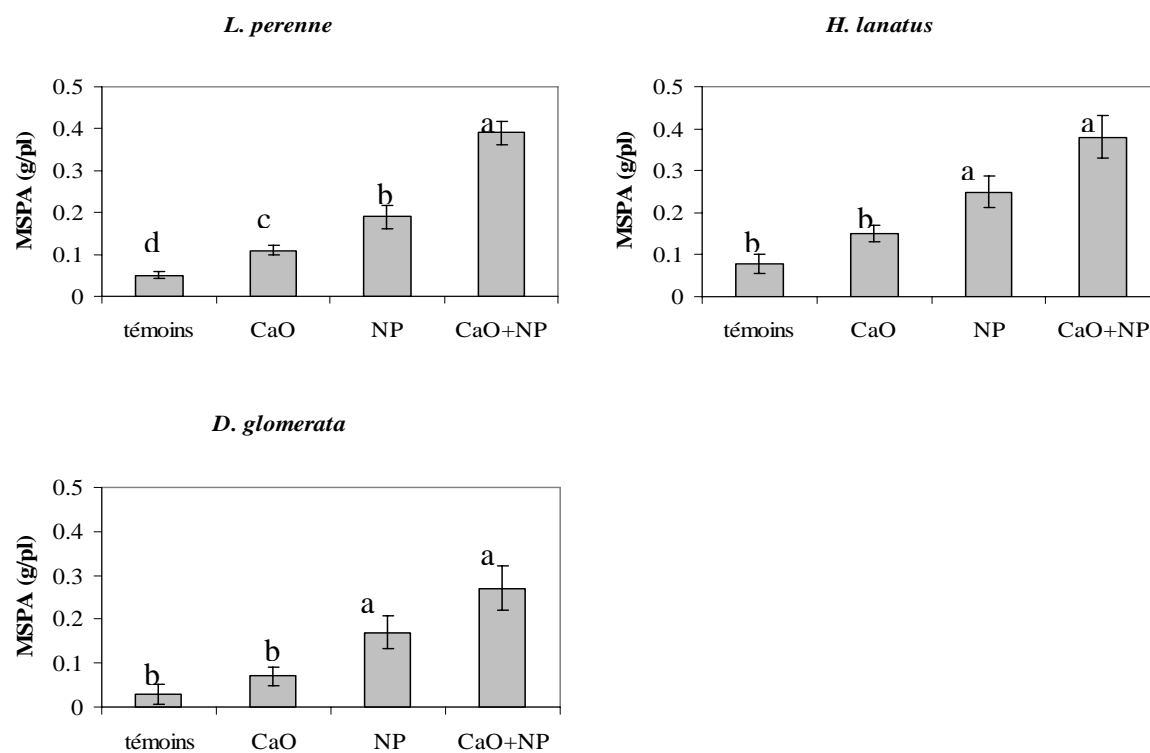


Figure 25. Effets des traitements sur la matière sèche des parties aériennes (MSPA) des espèces absentes à Massat (signification voir figure 24).

3.4. Distinction de l'effet des éléments N et P

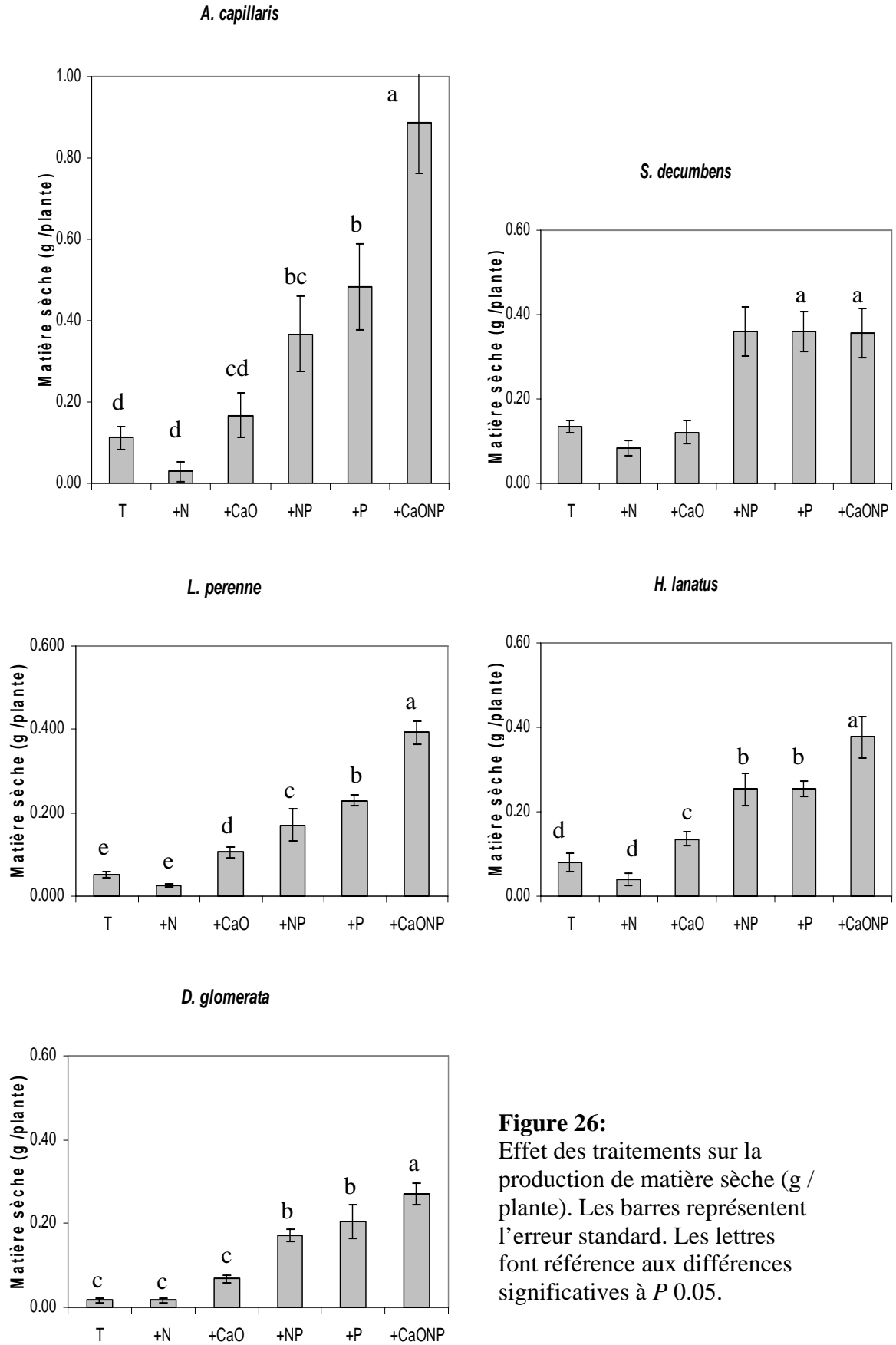
L'apport de N seul est négatif ou nul (**Figure 26**). L'azote ne semble pas être le premier facteur limitant. Par contre, l'effet de P est élevé quelque soit l'espèce : l'apport de phosphate a un effet positif sur la biomasse, supérieur à celui de la chaux seule et égal ou supérieur à celui de l'apport d'azote et de phosphate (NP).

L'analyse des teneurs en éléments des parties aériennes mesurées sur les traitements témoin et NP et CaO NP apporte quelques informations supplémentaires (**Tableau 27** et **Annexe 8**). Les teneurs en phosphore des parties aériennes confirment la carence en phosphore sur le témoin et l'amélioration de la nutrition en P par l'apport de phosphates. L'ordre de grandeur des teneurs en P dans les parties aériennes des plantes fertilisées NP et CaO+NP (1.1 – 1.4 ‰ ms) correspond encore à un niveau de nutrition en P faible (niveau critique P parties aériennes du blé = 1.8 ‰ ms, 69 jours après semis ; Elliott *et al.* 1997)

La teneur en Al des parties aériennes n'est pas diminuée dans les plantes mieux alimentées en P, au contraire. La teneur en Al des parties aériennes est, comme la teneur en Ca ou Mg, grossièrement proportionnelle à la biomasse ou à la quantité d'eau transpirée (voir la surface foliaire de *Lpc*). Elle augmente avec la durée de culture (comparer Fr 130 jours et *Lpc* 50 jours).

Tableau 27. Surface foliaire finale (SF cm²) à la récolte et teneurs en éléments minéraux des parties aériennes de quelques espèces prises comme exemples. Des traitements semis de la même lettre ne sont pas significativement différents à $P = 0.05$.

| | paramètre | T | NP | CaO NP |
|----|-----------------------------|--------|---------|--------|
| Lp | SF (cm ²) n = 4 | 9.9 c | 39.3 b | 66.0 a |
| | Ca g/kg | 1.19 b | 2.75 b | 9.34 a |
| | Mg g/kg | 0.42 c | 1.15 b | 2.02 a |
| | P g/kg | 0.27 b | 1.14 a | 1.38 a |
| | Al mg/kg | 188 b | 613 a | 674 a |
| Fr | SF (cm ²) | - | - | - |
| | Ca g/kg | 3.06 b | 4.09 b | 8.05 a |
| | Mg g/kg | 1.05 | 1.40 | 1.26 |
| | P g/kg | 0.66 b | 1.39 a | 1.11 a |
| | Al mg/kg | 790 b | 782 b | 1933 a |
| Mc | SF (cm ²) n= 2 | 13.7 | 45.7 | 70.3 |
| | Ca g/kg | 0.51 b | 2.91 ab | 5.77 a |
| | Mg g/kg | 0.55 b | 1.79 a | 1.34 a |
| | P g/kg | 0.24 b | 1.09 a | 0.81 a |
| | Al mg/kg | 355 b | 720 b | 1830 a |

**Figure 26:**

Effet des traitements sur la production de matière sèche (g/plante). Les barres représentent l'erreur standard. Les lettres font référence aux différences significatives à P 0.05.

La meilleure biomasse obtenue avec CaO + NP peut être expliquée par plusieurs facteurs :

- 1. Un effet améliorateur de CaO vis-à-vis de la disponibilité de P et de la nutrition en P,
- 2. Un effet améliorateur de CaO par rapport à la toxicité de Al
- 3. Un effet azote positif en présence de CaO

3.5. Effet des traitements sur la biomasse de racines

Les résultats concernant le poids sec des racines et leur longueur sont présentés dans les **Figures 27** et **28** pour *L. perenne* et *H. lanatus*. Les longueurs de racine par plante (2- 30 m) sont d'un ordre de grandeur comparable à celui du blé au tallage (2 – 18 m, Callot *et al.*,1982). Chez *L. perenne*, les traitements CaO NP et P améliorent la biomasse et la longueur des racines par rapport au témoin non fertilisé, non chaulé. Chez la houlque, le traitement CaO conduit à la meilleure croissance racinaire. Les traitements P et NP sont moins efficaces que la chaux mais ils améliorent la longueur des racines par rapport au témoin. Ces effets sont en accord avec les observations de Mc Laughlin et James, 1992 et montrent un effet positif des phosphates sur la croissance racinaire dans ce sol acide.

3.6. Interprétation de l'effet chaux

Nous avons considéré la quantité de P dans les parties aériennes comme un bon indice de l'absorption de P dans les différents traitements. Nous avons choisi *L. perenne* comme exemple d'espèce à fort RGR, peu efficace vis-à-vis de P et *F. rubra* comme exemple d'espèce à faible RGR, efficace vis-à-vis de P. : dans les deux cas, la comparaison des quantités de P observées dans les traitements NP et CaONP montre que le traitement à la chaux améliore l'absorption de P (**Figure 29**). Pour les autres espèces analysées, l'effet améliorateur de la chaux est aussi observé avec ou sans signification statistique sur *Dg*, *Hl*, *Hs* (données non présentées). Deux espèces présentent une réponse différente : *Mc* et *Sd*. Pour ces deux espèces la biomasse de parties aériennes (**Figure 24**), la teneur en phosphore (**Annexe 8**) et donc la quantité de P des parties aériennes sont plus faibles dans le traitement CaONP par rapport au traitement CaO.

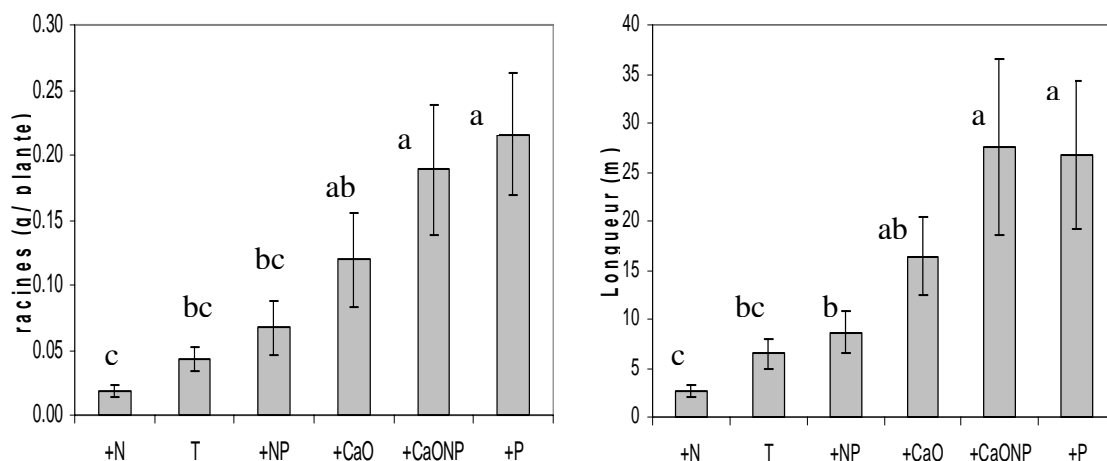


Figure 27. *Lolium perenne* : **a** Biomasse de racines (g de ms / plante) chez *L. perenne*. **b** longueur de racine par plante (m).

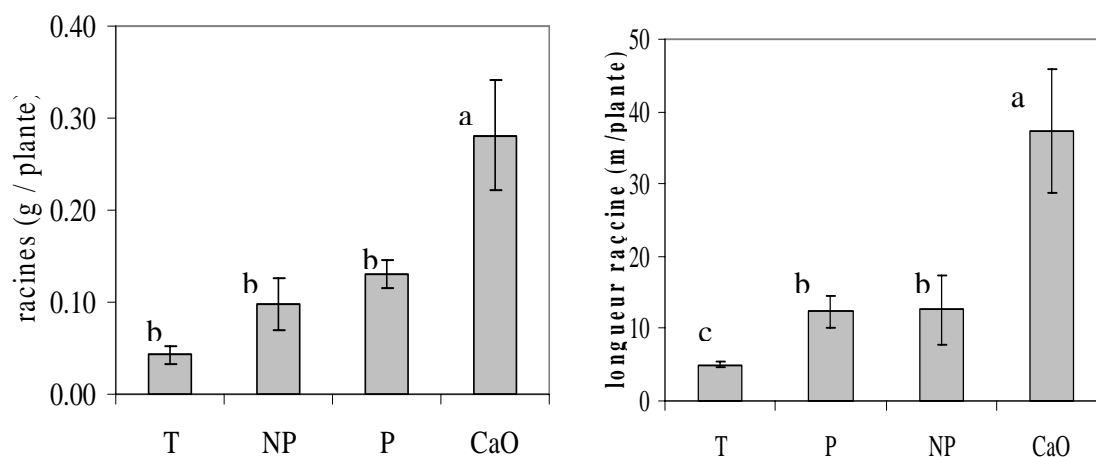


Figure 28. *H. lanatus* **a** matière sèche des racines de *H. lanatus* (g/pl) **b** longueur de racines par plantes (m/plante).

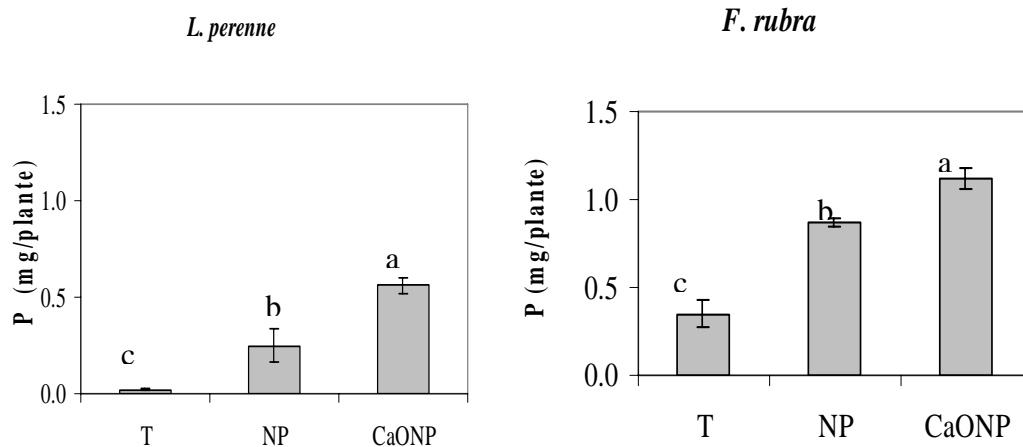


Figure 29. Effet des traitements sur la quantité de P des parties aériennes.

3.7. Conclusion

La mise en culture sur l'horizon B du sol de Massat, plus acide et plus pauvre en P a permis d'amplifier et d'exagérer les phénomènes observés sur le terrain : les horizons profonds et acides, généreraient à eux seuls une alimentation en P très insuffisante. La croissance en plein champ ne peut être entretenue que par la contribution de l'horizon superficiel, plus riche en phosphore.

L'apport de phosphore en pot a sur toutes les espèces un fort effet sur la biomasse aérienne (x 3 à x10) comparable à celui observé en plein champ sur les traitements fertilisés (NPK, CaCO₃ NPK). On en déduit que l'élément fertilisant limitant le rendement dans un stade d'évolution plus avancé vers l'acidité serait l'élément P. Dans l'essai de plein champ, la plus grande richesse en P de l'horizon de surface peut tempérer l'effet limitant du P.

Les mesures des racines faites sur *Lp* et *Hl* montrent qu'à ce niveau d'acidité et de pauvreté du sol l'apport de P améliore la croissance des racines par rapport au témoin, et beaucoup plus chez *Lp* que chez *Hl*. Cette amélioration de la croissance racinaire peut participer à l'explication de l'effet positif de la fertilisation (NPK) à Massat.

Comme en plein champ la chaux a un effet minime sur la biomasse de parties aériennes des espèces présentes à Massat. Pour *Mc* et *Sd* il peut être nul ou négatif. L'effet chaux est un peu plus fort sur les espèces productives (*Dg*, *Hl*, *Lp*) peu présentes à Massat. Pour les deux espèces présentées (*Lp*, *Hl*), la chaux a un effet plus fort au niveau des racines par rapport aux parties aériennes. Ce meilleur enracinement est compatible avec une réduction de la toxicité de Al. D'autres effets peuvent interagir : à ce faible niveau de chaulage (6.0 début d'expérience – 4.7 fin d'expérience), l'apport de chaux a aussi amélioré la disponibilité et l'absorption du phosphore.

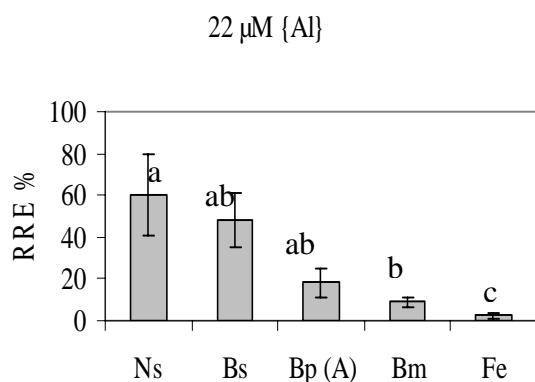


Figure 30. Elongation relative à 22 μM {Al³⁺} pour le nard (Ns), le brachypode sylvatic (Bs), *B. pinnatum* (Bp) (A origine alpine, calcaire), la brize (Bm) et le gispet (Fe). Les espèces suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes à $P 0.05$.

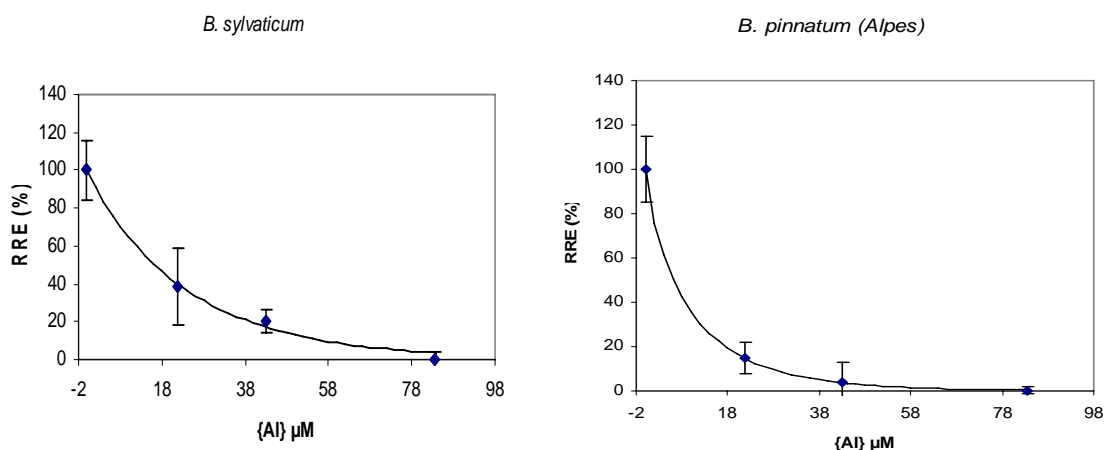


Figure 31. Effet de l'aluminium sur l'élongation relative des racines de *B. sylvaticum* et de deux origines de *B. pinnatum*. Les barres représentent \pm l'erreur standard.

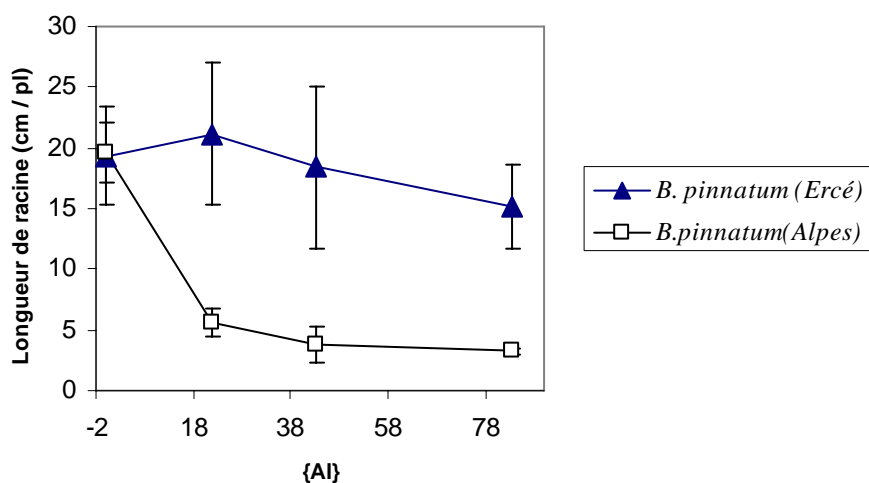


Figure 32. Comparaison de l'effet de l'aluminium sur la longueur de racines par plante de *B. pinnatum* (Ercé) et de *B. pinnatum* (Alpes). Les barres représentent \pm l'erreur standard.

4. Résistance à Al en solution nutritive

Les résultats seront présentés de la manière suivante : *Ns*, *Fe*, *Bm*, *Bs*, espèces rarement présentes dans les prairies acides de l'étage collinéen seront brièvement évoquées. Ensuite, seront présentés les espèces des prairies en sol acide et de l'essai de Massat. D'abord le brachypode, *B. pinnatum* qui a donné des résultats différents selon l'origine des semences. Ensuite *A. odoratum* et *H. lanatus* qui sont hétérogènes et suggèrent une différence de résistance entre les semences d'une même origine. Enfin, cinq espèces typiques des sols acides ont donné des résultats répétables et interprétables par le modèle de réponse de Weibull (*Fr*, *Ae*, *Mc*, *Hs*, *Sd*). Ces cinq espèces ont été jointes à celles dont les caractéristiques de résistance à Al étaient déjà publiées pour présenter une synthèse des relations entre leur abondance en sol acide et peu fertile, leurs traits et leur résistance à Al. Cette dernière partie a fait l'objet de l'article accepté dans *Annals of Botany*.

4.1. Classement relatif de quelques espèces d'intérêt pour l'équipe Orphée:

L'élongation relative des racines à la dose 22 μM $\{\text{Al}^{3+}\}$ permet de faire apparaître les différences entre espèces (**Figure 30**). Le gispet (*Fe*) et la brize (*Bm*) sont très sensibles. Le Nard est résistant, mais donne des résultats hétérogènes soit à cause de difficultés de culture en solution nutritive soit à cause de différences de résistance. *Bs* semble aussi résistant que le nard. *Bp* (A) et *Bm* sont des espèces à résistance intermédiaire entre *Fe* et *Bs*.

4.2. Résistance à Al des brachypodes

Le calcul de la valeur $\{\text{Al}\}_{50}$ de *B. sylvaticum* ($m \pm se : 16.2 \pm 6.3 *$) et de celle de *B. pinnatum* (origine Alpe 6.1 ± 8.6 ns) confirme le classement obtenu à la concentration de 22 μM (**Figure 31**). La valeur obtenue pour *B. pinnatum* n'est qu'une approximation car le choix des concentrations utilisées ne permet pas d'avoir une bonne précision pour les faibles valeurs $\{\text{Al}\}_{50}$. Cette valeur comparable à celle que l'on peut trouver pour du ray gras ou du dactyle suggère que *B. pinnatum* (Alpes) n'est pas résistant à Al. La réponse à Al de la longueur des racines de *B. pinnatum* (Ercé) présente plus de variabilité (**Figure 32**) ; de plus, elle suggère une résistance à Al qu'il faudrait vérifier dans une expérience indépendante incluant des niveaux plus élevés d'Al. Chez le ray gras (Charmet et Balfourier, 1994), les fétuques (Sampoux, 2006) et les Agrostis (Liu *et al.*, 1997) il existe une forte structuration et différenciation entre écotypes pour les traits d'adaptation au milieu. Les différences entre écotypes de Brachypode semblent relever du même mécanisme et pourraient être considérées comme une réponse adaptative à la composition des sols. Cependant nous n'avons pas été capables de trouver sur le terrain, d'autres sites acides dans lesquels le brachypode serait présent. Si cette question devait être reexaminée dans une étude ultérieure, il faudrait y consacrer des moyens expérimentaux plus importants, notamment en augmentant fortement ($n=25$) l'effectif des plantes observées dans chaque répétition.

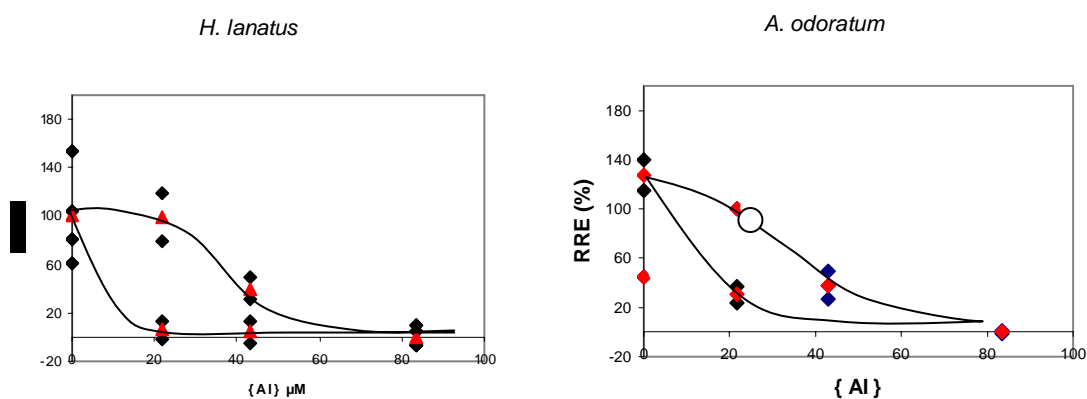


Figure 33. Effet de l'aluminium sur l'élongation relative des racines de **a** *H. lanatus*. et **b** *A. odoratum* : les lignes tracées à la main illustrent l'hypothèse d'hétérogénéité du caractère résistance à Al chez ces deux espèces. Signification des symboles (♦ observation, ◇ moyenne, o valeur simulée)

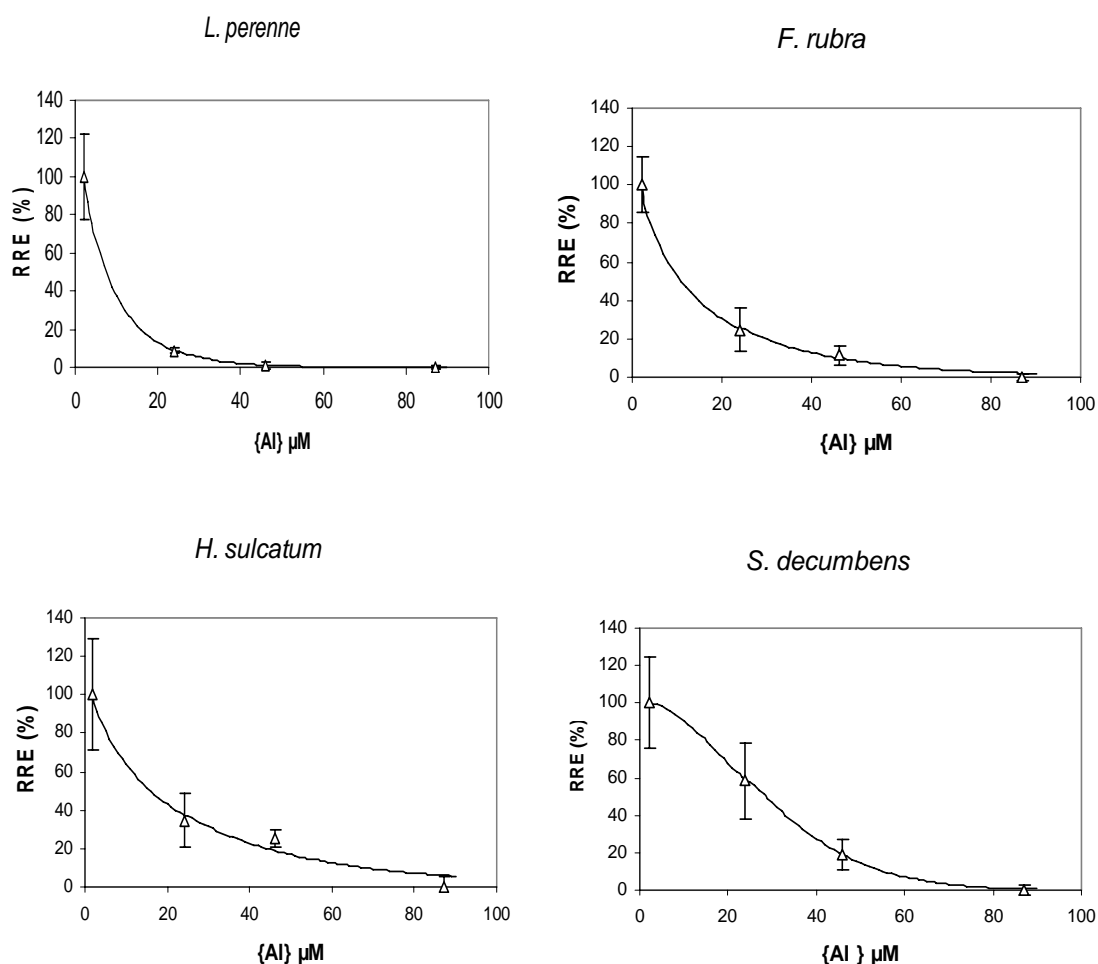


Figure 34. Modèles de réponse à l'aluminium de *L. perenne* ($\{Al\}_{50} = 5.5$ ns), *F. rubra* (8.9 , $P = 0.076$), *H. sulcatum* ($\{Al\}_{50} = 13.9$ P 0.070), *S. decumbens* ($\{Al\}_{50} = 25.5$ ***).

4.3. Caractérisation de la résistance à Al de *H. lanatus* et *A. odoratum* :

L'élongation relative des racines de *H. lanatus* présente une grande variabilité pour la dose Al = 22 μM en particulier. Cette variabilité empêche de choisir un modèle de réponse entre les deux extrêmes présentés dans la **figure 33 a**. Une variabilité analogue a été rencontrée pour *A. odoratum* (**Figure 33 b**). Il serait d'abord nécessaire de répéter la mesure de la réponse à Al pour ces deux espèces pour confirmer cette interprétation. La diversité intra – population peut expliquer les fortes variations entre répétitions de la réponse de l'élongation des racines de *H. lanatus* et *A. odoratum* à la teneur en aluminium. En fait, les graminées prairiales étudiés sont allogames et anémophiles. Donc, les populations sont génétiquement hétérogènes. Comprendre cette diversité devrait contribuer à la compréhension de la différenciation écologique selon les caractères d'adaptation. L'hypothèse d'une diversité de résistance à Al dans les semences utilisées semble compatible avec les différences raciales de sensibilité à Al^{3+} et à H^+ chez *H. lanatus* (Kidd et Proctor, 2001). Une diversité analogue a été suggérée chez *A. odoratum* dont deux races de résistance différente sont apparues en 65 ans dans l'expérimentation de Park Grass (Rothamsted, UK ; Johnston, 1997). Enfin, on peut noter que les différences de qualité de graine (énergie germinative) sont susceptibles d'avoir des impacts sur les premiers stades de croissance et sont susceptibles d'apporter un biais dans les résultats.

4.4. Caractérisation de quelques espèces résistantes

Les élongations racinaires relatives obtenues aux activités 22 et 43 μM {Al} ont permis de démontrer la résistance à Al de 5 espèces (*Ae*, *Fr*, *Hs*, *Mc*, *Sd*) par analyse de variance et comparaison aux témoins sensibles (*Cc*, *Dg*, *Lp*). (Article Annals of Botany page 94).

La modélisation par le modèle de Weibull a ensuite permis de proposer des valeurs {Al}₅₀ pour ces espèces. Trois classes de réponse ont été identifiées avec une assez bonne correspondance avec la classification de Wheeler (1992) :

- sensibilité à Al, exemple *L. perenne* (**Figure 34** {Al}₅₀ < 5 μM)
- résistance (exemple *F. rubra*, *H. sulcatum* **Figure 34**, *M. caerulea*, **Figure 35**), 5 μM < {Al}₅₀ < 20 μM
- très grande résistance (exemple : *S. decumbens* figure 4) {Al}₅₀ > 20 μM .

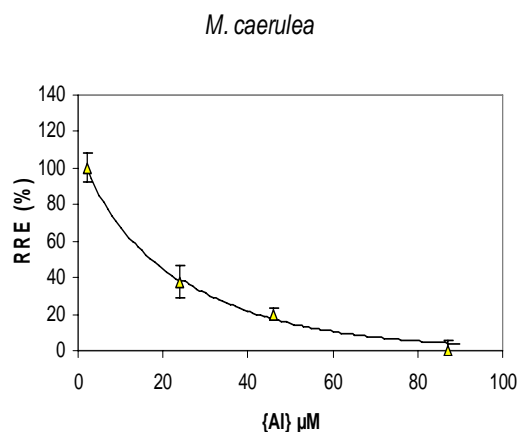


Figure 35. Modèle de réponse à l'aluminium de *M. caerulea* ($\{Al\}_{50} = 13.0$ **).

Aucune des graminées étudiées n'a atteint les résistances mesurées par Wenzl sur graminées tropicales (50 μM , Wenzl *et al.*, 2003). Il est clair qu'il aurait fallu ajouter dans la gamme expérimentée un ou deux traitements d'activité plus faible (5 et 11 μM {Al} par exemple) pour avoir plus de précision sur les résistances à Al, dans le domaine 0 - 22 μM . Pour présenter une synthèse plus intéressante, nous avons donc utilisé les valeurs mesurées et toutes celles qui avaient été publiées antérieurement dans la bibliographie. Ceci a permis de considérer simultanément 15 espèces en associant un potentiel de résistance à Al estimé par la valeur Al_{50} , leurs traits et leur abondance dans différentes prairies acides et peu fertiles.

Relationship between the Al Resistance of Grasses and their Adaptation to an Infertile Habitat

VAHID POOZESH¹, PABLO CRUZ¹, PHILIPPE CHOLER² and GEORGES BERTONI^{1,*}

¹UMR 1248 Agir, INRA-ENSAT, BP 52627 Auzeville, 31326 Castanet-Tolosan, France and ²UMR UJF-CNRS 5553, Laboratoire d'Ecologie Alpine, Université J. Fourier, BP 53 X, 38041 Grenoble, France

Received: 7 December 2006 Returned for revision: 2 January 2007 Accepted: 5 February 2007

- **Background and Aims** Original data on Al resistance, relative growth rate and leaf traits of five European grasses as well as literature data on Al resistance, habitat preference and traits of grasses were considered to determine whether (a) Al resistance is correlated to a growth conservative strategy and (b) species occurrence could be useful to assess Al toxicity in meadows on acid soils.
- **Methods** The Al resistance of 15 species was represented by the Al activity in nutrient solution that resulted in a 50% decrease in root length, $\{Al^{3+}\}_{50}$, or, for published values, in root or plant biomass. The correlations between Al resistance and acidity or nitrogen indices and the correlation between Al resistance and selected traits (relative growth rate, leaf dry matter content, specific leaf area and leaf thickness) were calculated. Principal component analysis was used for the characterization of the relationships between Al resistance and measured traits.
- **Key Results** The $\{Al^{3+}\}_{50}$ values of the resistant species *Molinia caerulea* and *Sieglingia decumbens* were 13 and 26 μM $\{Al^{3+}\}_{50}$, respectively. The known Al resistance of 15 species that were mainly of the intermediate strategy competitor–stress tolerator–ruderal (C-S-R) type and of the S type was correlated with Ellenberg's nitrogen and acidity indices. For the whole set of species, the correlation between Al resistance and traits was not significant.
- **Conclusion** The Al resistance of the C-S-R species was variable and independent of their traits. S-type species, adapted to acid soils and with traits of conservative strategy, displayed Al resistance. The large difference in Al resistance between grasses may help assess Al soil toxicity by using the abundance of grasses.

Key words: Grassland, plant functional traits, acid soils, Al resistance, grasses, *Arrhenatherum elatius*, *Festuca rubra*, *Helictotrichon sulcatum*, *Molinia caerulea*, *Sieglingia decumbens*.

INTRODUCTION

Soil acidity, as defined by a topsoil pH value below 5.5, is observed in about 37% of the soils in Europe (von Uexküll and Mutert, 1995). It develops under wet climates in northern Europe as well as in the forests and grasslands of the mountain ranges (Falkengren-Grerup and Tyler, 1993; Baize and Roque, 1998; Austrheim *et al.*, 2005). This natural phenomenon limits plant growth, decreases the diversity of grassland species and selects species which are generally lower yielding (Tyler, 1996; Roem and Berendse, 2000; Austrheim *et al.*, 2005). The acidification is promoted by the geological substratum and enhanced by acid rains and ammonium fertilizers.

In organic acid soils, the acidity due to H^+ ions is, by itself, harmful to plants (Kidd and Proctor, 2001). However, in mineral acid soils, the indirect adverse effects of acidity prevail with Al, Mn and Fe toxicity, and P, Ca, Mg, and K deficiency (von Uexküll and Mutert, 1995). Among these adverse effects, Al toxicity, as measured by its chemical activity $\{Al^{3+}\}$, is often predominant (Hocking, 2001). Al activity is near zero above pH 5.5 and increases markedly from pH 5.0 to pH 4.1 over the range 1–150 μM (Kinraide, 1991, 2003). It is influenced by Ca and Mg concentrations (Kinraide, 2003) and by Al ligand concentrations, particularly phosphates, sulfates and the anionic forms of soluble organic acids (Ritchie,

1995). Al activity in the soil solution and Al toxicity are thus difficult to assess through the determination of the usual parameters measured in soil analysis. In most cases, the Al toxicity hazard is estimated through the measurements of soil pH value, exchangeable Al concentration and Al/Ca ratio in the soil solution (Houdijk *et al.*, 1993; Roem and Berendse, 2000). Al activity in the soil solution is rarely determined or calculated (Kidd and Proctor, 2001; SchötteIndreier *et al.*, 2001; Kinraide, 2003).

Plant resistance to Al toxicity (Kochian *et al.*, 2005) has been measured by the Al activity $\{Al^{3+}\}_{50}$ for which above ground or root biomass (Wheeler *et al.*, 1992; Wheeler, 1995) or root length (Wright *et al.*, 1987; Kinraide, 2003) is decreased by 50%. The variability in Al resistance between grasses ranges from 1 to 50 μM $\{Al^{3+}\}_{50}$ (Wenzl *et al.*, 2001). However, the $\{Al^{3+}\}_{50}$ value is known only for a small number of meadow grasses of the temperate zone: for the resistant species *Agrostis capillaris* ($\{Al^{3+}\}_{50} > 30 \mu M$), *Festuca rubra* and *Holcus lanatus* ($\{Al^{3+}\}_{50} 10–20 \mu M$), for the moderately sensitive species *Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea*, *Lolium* spp. ($\{Al^{3+}\}_{50}$ approx. 5 μM) and for the sensitive species ($\{Al^{3+}\}_{50} < 2 \mu M$) such as *Bromus* spp., *Cynosurus cristatus*, cultivars of *Lolium perenne*, *Poa pratensis* and *Phleum pratense* (Wheeler *et al.*, 1992; Wheeler, 1995). Besides, an intraspecific variability in the resistance to Al was observed in rye grass and orchard grass (1–5 and 2–10 μM $\{Al^{3+}\}_{50}$, respectively; Wheeler 1992, 1995).

* For correspondence. E-mail bertoni@ensat.fr

Intraspecific variabilities, without any mention of the corresponding $\{Al^{3+}\}_{50}$ values, were reported in Yorkshire fog (Kidd and Proctor, 2001) and in fescues (Liu *et al.*, 1996).

The numerous observations on the adaptation of some grass species to soil acidity were synthesized in Ellenberg's acidity indices (Ellenberg *et al.*, 1992). Low values (1–3) of the acidity index correspond, with few exceptions, to species whose pH optimum can be assumed to be below 5.5, i.e. lying in the potential range of Al toxicity (Schaffers and Sykora, 2000). However, a precise correspondence between tolerance to soil acidity (using Ellenberg's indices) and resistance to Al does not appear to have been ascertained.

To our knowledge, since the investigations of Wheeler (1995), neither the Al resistance potential of other grasses of the temperate zone nor the possible links between tolerance to acid soils and resistance to Al have been further investigated. Likewise, the possible link between resistance to Al and adaptation to infertile soils (conservation strategy vs. capture strategy) has not been investigated. The assumption is that Al-resistant grasses are, in the first place, adapted to limited nutrition conditions. The adaptation to infertile soils can be represented by Ellenberg's nitrogen index which is issued from the classification of observed niches and is well correlated to species productivity (Schaffers and Sykora, 2000). Functional traits that are characteristic of the species strategy (Reader, 1998; Wilson *et al.*, 1999; Ansquer *et al.*, 2004), relative growth rate (RGR), specific leaf area (SLA), leaf dry matter content (LDMC) and leaf thickness (LT) were also considered. The aim of the investigations reported here was to analyse the relationships between resistance to Al and these indices and traits so as to ascertain a diagnosis of the extent of Al toxicity from the occurrence of various grass species in acid grasslands.

MATERIALS AND METHODS

Growth conditions and quantification of Al resistance

The grasses to be studied were chosen in relation to their occurrence in moderately acidic soils of grasslands in the Central Pyrenees (1°17'E, 42°51'N, 600–900 m a.s.l.). The abundance of the grass species was determined in three acidic stands with infertile soil and potential Al toxicity (stands 1, 2 and 3) and in a less acidic and slightly more fertile stand with no Al toxicity (stand 4). The disturbance induced by the defoliation pressure increased from stand 1 (only mowed once or twice a year) to stands 2 and 3 (two foliage removals by mowing and grazing) and to stand 4 (three foliage removals: mowed, grazed and re-grazed). To give an index of the fertility differences between the stands, the nitrogen nutrition was measured on the first cut: the hay was dried (80 °C, 48 h), weighed, ground, and analysed for total N content (CHN 2000 analyser, Leco, St Joseph, MI, USA). The nitrogen nutrition index (NNI), expressed as a percentage of the optimum nutrition, was then calculated according to Lemaire and Gastal (1997). The pH (soil water ratio 1:2.5, v/v) and the Al exchangeable content (cobaltihexamine method;

Orsini and Remy, 1976) were measured at 0–5 cm soil depth. The abundance was measured according to Daget and Poissonet (1971) and expressed as the percentage of the abundance of the grasses ($n = 2–4$ replications by stand).

When Al resistance was unknown, the Al resistance of the abundant species was quantified in nutrient solution culture in a growth chamber. One cultivated species, *L. perenne* (Lp) 'Clerpin', and one wild ecotype of *F. rubra* were taken as sensitive and resistant controls, respectively. Seeds of the seven wild grasses were collected in their native habitat: *Arrhenatherum elatius*, *F. rubra*, *Helictotrichon sulcatum* (Gay) Pilger, *C. cristatus*, *D. glomerata*, *Molinia caerulea* and *Sieglingia decumbens*.

Growth conditions

Surface-sterilized and vernalized seeds were germinated for 1 or 2 weeks, depending on the species, on wet filter paper in Petri dishes. After germination, 12–20 uniform seedlings of each species were sorted in four lots. Each lot of 3–5 plants was taken as one experimental unit. When the principal root length was 1 ± 0.5 cm, the seedlings were transferred into the different nutrient solutions, with or without Al, in a growth chamber with the following conditions: day, 14 h, photosynthetic photon flux density at mean plant height $260 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ of PAR (photosynthetically active radiation), temperature 25 °C, relative humidity approx. 70%; night, 10 h, temperature 18 °C. The species were cultivated in trays floating on four 48 L tanks corresponding to the four Al treatments. The same experimental protocol was time-replicated three times.

Low ionic strength nutrient solutions simulated an infertile acid soil solution according to Wenzl *et al.* (2003). The composition of the nutrient solution (pH 4.2) was as follows (in μM): 100 NO_3 , 10 NH_4 , 60 Ca, 30 Mg, 60 K, 1 P, 100 S, 6 B, 5 Fe, 1 Zn, 1 Mn, 0.2 Cu, 5 Si, 5 H_2EDTA , 0.001 Mo, 160 Na. Al was added at concentrations of 0 (control), 40, 80 and 160 μM of acidified AlCl_3 , corresponding to 0, 22, 43 and 83 μM $\{Al^{3+}\}$. These values correspond to the range of $\{Al^{3+}\}$ expected in temperate acid soils (Wright *et al.*, 1987). The solutions were continuously aerated and renewed every 3 d in order to minimize variations in the concentration of the nutrients. The HCl concentration (55.4 μM) was adjusted in order to obtain a pH value of the solution in the range 4.2 ± 0.1 . The activity of Al^{3+} was calculated with GEOCHEM 2.0 (Parker *et al.*, 1987) by using the constants of stability of Nordstrom and May (1989) and the solubility constants of Al(OH)₃ mentioned by Kinraide and Parker (1989).

Quantification of Al resistance

Seedlings were harvested after 14 (species with a high RGR) or 21 d (species with a low RGR) of growth at the different Al concentrations. They were separated into roots and shoots. Roots were stained with a 1% (v/v) dilution of a methyl violet stock solution (1 g 100 mL⁻¹ ethanol) and scanned with a flatbed scanner. The WinRhizo software (Regent Instruments Inc., Quebec,

Canada) was used to obtain the overall length of roots. The data of the three successive replications for each species and treatment were pooled for calculations. Relative root elongation (RRE) of the plants treated with Al and the activity $\{Al^{3+}\}_{50}$ at which RRE was reduced to 50% of the control were adapted from Wenzl *et al.* (2001). Briefly, RRE and $\{Al^{3+}\}_{50}$ were calculated as follows:

$$RRE = 100(RL_{Al} - RL_{\infty}) / (RL_0 - RL_{\infty})$$

where RL_{Al} is the root length in the Al treatment, RL_{∞} is the mean root length at the highest level of Al, and RL_0 is the mean root length in the control solution (0 μM Al). RRE values for *C. cristatus* (sensitive to Al), *L. perenne* and *D. glomerata* (moderately sensitive) were taken as control values. The response of RRE to $\{Al\}$ was fitted to a Weibull equation as suggested by Kinraide and Parker (1989):

$$RRE = 100 / \exp[a\{Al^{3+}\}^b]$$

The activity $\{Al^{3+}\}_{50}$ at which RRE was reduced to 50% of the control was calculated from a and b empirical values according to the formula:

$$\{Al^{3+}\}_{50} = a^{-1} [\ln(2)]^{1/b}$$

As the $\{Al^{3+}\}$ values tested (22–83 μM) were high, the calculations were not suitable for sensitive species with low $\{Al^{3+}\}_{50}$ values (1–6 μM $\{Al^{3+}\}_{50}$) such as *C. cristatus*, *D. glomerata* and *L. perenne*.

Leaf traits and RGR measurement

Leaf dry matter content and specific leaf area were measured on the same species. For each species, samples of 5–15 tillers ($n = 5–12$ samples) developed under sun-light conditions were harvested in the field during May–June, in acidic meadows (pH 4.7–6.6) of Ariège (Central Pyrenees, France). Each tiller was cut at its base and immediately plunged into a test tube filled with water in order to avoid wilting. LDMC and SLA measurements were made following the protocol described by Gamier *et al.* (2001) and Cornelissen *et al.* (2003) evaluating water-saturated blades (excluding sheaths) on the youngest fully expanded leaf of the tiller. Leaf thickness (LT) was calculated from measured SLA and LDMC according to Vile *et al.* (2005).

RGR was measured on the species presenting some Al resistance: *A. elatius*, *F. rubra* (taken as a control), *H. sulcatum*, *M. caerulea* and *S. decumbens*. The young plants were cultivated in nutrient solution in a growth chamber with climatic conditions as previously described. The composition of the nutrient solution was as follows (in μM): 450 NO_3^- , 150 NH_4^+ , 800 Ca, 200 Mg, 350 K, 50 P, 1000 S, 6 B, 5 Fe, 1 Zn, 1 Mn, 0.1 Cu, 0.1 Mo. The solution was renewed every 10 d. Holes in the Styrofoam cover

of the 48 L tanks received bungs with three homogeneous seedlings of each species. RGR was measured using a fresh weight method adapted from Causton (1991). Each bung was removed from the tank, blotted dry, weighed, and then replaced in the solution. By this means, the fresh weight of the same unit of three plants could be monitored throughout the experiments. Let the fresh weight of the sample at date t_1 be W_1 ; RGR was calculated as follows:

$$RGR = (\ln W_2 - \ln W_1) / (t_2 - t_1)$$

As species differed in growth rate, RGR was calculated over a period when the different species had a similar total dry weight (between 100 and 450 mg dry weight per plant) and yielded high RGRs. Values are the mean of three independent replications of RGR measurement except for *H. sulcatum* (two replications).

Al-traits relationships

In order to gain an insight on a greater number of species (15 species), the Al-traits relationships were studied using a collection of values published by other authors in addition to measured values on five species from this study. Published values of $\{Al^{3+}\}_{50}$ are scarce. Data issued from long-term measurement of $\{Al^{3+}\}_{50}$ on shoot biomass, which had been suggested to be in accordance with those on root biomass (Wheeler *et al.*, 1992), were found in Wheeler *et al.* (1992) and Wheeler (1995). When a range of resistance was known for a species, the value used was the median value of the resistance range. For the other species, the estimated $\{Al^{3+}\}_{50}$ value was used. The $\{Al^{3+}\}_{50}$ value of *D. flexuosa* was estimated from growth data and nutrient concentrations of Rorison (1985), using GEOCHEM 2.0.

Published values of traits were collected in Poorter and Remkes (1990), Hunt and Cornelissen (1997), Meziane and Shipley (1999), Poorter and de Jong (1999), Ryser and Urbas (2000), Ryser and Wahl (2001), Taub (2002), Al Haj Khaled *et al.* (2005) and Sugiyama (2005). Ellenberg indices were obtained from Ellenberg *et al.* (1992). Details are given in Table 3.

Statistics

One-way (species) analysis of variance of RRE was performed with the StatBox 2.0 statistical package (Grimmersoft, Paris, France) on log-transformed data at each level of Al. Significant differences between means refer to the probability level of 0.05 by Newman and Keuls's bilateral test. For $\{Al^{3+}\}_{50}$ estimation, the Weibull function was fitted using the non-linear square procedure in R software 1.9.0 (Ihaka and Gentleman, 1996). The standard error s.e. $\{Al^{3+}\}_{50}$ was calculated according to Wenzl *et al.* (2001). Significance of the $\{Al^{3+}\}_{50}$ values refers to the unilateral comparison to the 0 value (t -test; $n = 12$; *A. elatius*, $n = 11$).

Relationships between $\{Al^{3+}\}_{50}$ and traits were tested with the linear correlation coefficient r . For the overview of $\{Al^{3+}\}_{50}$ and traits relationships, principal component analysis (PCA) was performed on the correlation matrix of the selected variables using R 1.9.0. Groups of species in the first plane of the PCA were distinguished using a distance analysis based on Ward's criteria.

RESULTS

Ranking of Al resistance

In the acidic stands 1, 2 and 3, with Al toxicity hazard, *A. capillaris*, *F. rubra* and *H. sulcatum* were always more abundant than in the control stand 4 (Table 1). *Molinia caerulea*, *S. decumbens* and *B. pinnatum* were observed only in the acidic stand 1. Conversely, the species that were abundant in the control plot with no Al toxicity hazard (*D. glomerata*, *H. lanatus* and *L. perenne*) were scarce or absent in the acidic stands. The number of grass species in the acidic stands was rather restricted in comparison with the control plot. Thus, the abundances of the grasses may be related to the Al toxicity hazard of the stands.

In nutrient solution culture, the $\{Al^{3+}\}$ 22 μM level (Fig. 1A) was highly toxic to the controls *C. cristatus* and *D. glomerata* (RRE 2 and 5%, respectively). In contrast, *S. decumbens* and *M. caerulea* displayed a markedly higher relative growth (59 and 38%, respectively). The growth of *L. perenne* 'Clerpin' (11%), *A. elatius* (20%), *F. rubra* (25%) and *H. sulcatum* (35%) was intermediate. The $\{Al^{3+}\}$ 43 μM level (Fig. 1B) allowed two groups of species to be distinguished: sensitive (RRE below 3%: *C. cristatus*, *D. glomerata* and *L. perenne* cv. Clerpin) and resistant species (RRE ranging from 11 to 38%: *F. rubra*, *S. decumbens*, *M. caerulea* and *H. sulcatum*). *Arrhenatherum elatius* (11%) was intermediate.

When the response of RRE to $\{Al^{3+}\}$ was fitted to a Weibull function, the resistance of *M. caerulea* and *S. decumbens* was corroborated with calculated activities $\{Al^{3+}\}_{50}$ of 13 and 26 μM (Table 2). Higher data variability and/or a lower $\{Al^{3+}\}_{50}$ value resulted in non-significant $\{Al^{3+}\}_{50}$ values for *A. elatius*, *F. rubra* and *H. sulcatum*. Most of the resistant species (*H. sulcatum*, *S. decumbens* and *M. caerulea* and the red fescue ecotype selected as a control) displayed traits that are characteristic of a conservation strategy (low SLA, high LDMC, low RGR; Table 2). *Arrhenatherum elatius*, with a high SLA, a median LDMC value and a relatively low RGR, presented traits of an intermediate strategy between capture and conservation.

Relationships with plant functional traits

For all the species whose acidity index was expressed numerically, the resistance to Al was correlated negatively to the acidity index (H index; Table 3). The grasses that are most resistant to Al were referenced as resistant to acidity (H index 2–6) or indifferent to acidity (H index x). Conversely, the species with an H index of 7–8 are weakly resistant to Al. However, large discrepancies are observed for the species listed as indifferent to acidity (H index x) which include species that are sensitive to Al (*C. cristatus* and *P. pratensis*), as well as species that are moderately sensitive (*D. glomerata* and *P. pratense*) or resistant (*H. lanatus* and *M. caerulea*). The negative correlation between N index and Al resistance reflects the low N index (2–3) of the resistant species (*D. flexuosa*, *M. caerulea* and *S. decumbens*) and the high N index (6–7) of some sensitive grasses (*D. glomerata*, *L. perenne*, *P. pratense* and *P. pratensis*). However, the relationship is rather loose: for example, the Al-susceptible species *C. cristatus* and *B. inermis* had the same moderate N index (4–5) as the resistant species *H. lanatus* and *A. capillaris*.

TABLE 1. Comparison of the abundance of grass species in three acidic stands (1, 2 and 3) with differing exchangeable Al rates and in a control plot with no Al toxicity (stand 4)

| | Stand 1 (\pm s.e.; n = 3) | Stand 2 (\pm s.e.; n = 2) | Stand 3 (\pm s.e.; n = 2) | Stand 4 (\pm s.e.; n = 4) |
|-------------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Soil characteristics | | | | |
| pH | 5.0 (0.2) | 5.2 (0.1) | 5.2 (0.1) | 6.0 (0.1) |
| Al [cmol (+) kg ⁻¹ soil] | 4.5* (0.2) | 0.7 (0.5) | 0.2 (0.2) | 0.1* (0.1) |
| Grass nutrition | | | | |
| Nitrogen index (%) | 39.4 (0.3) | 58.0 (4.0) | 58.0 (1.4) | 64.1† (1.6) |
| Species abundance (%) | | | | |
| <i>Festuca rubra</i> | 19.8 (11.8) | 30.8 (9.2) | 33.7 (6.9) | 3.0 (3.0) |
| <i>Agrostis capillaris</i> | 5.8 (2.9) | 31.0 (0.6) | 45.8 (15.9) | 6.9 (1.5) |
| <i>Helictotrichon sulcatum</i> | 17.9 (4.5) | 16.3 (15.8) | 10.5 (1.7) | 0.0 – |
| <i>Molinia caerulea</i> | 15.1 (2.9) | 0.0 – | 0.0 – | 0.0 – |
| <i>Sieglingia decumbens</i> | 17.2 (1.3) | 0.0 – | 0.0 – | 0.0 – |
| <i>Brachypodium pinnatum</i> | 24.3 (13.1) | 0.0 – | 0.0 – | 0.0 – |
| <i>Anthoxanthum odoratum</i> | 0.0 – | 9.6 (2.4) | 0.0 – | 4.7 (1.8) |
| <i>Arrhenatherum elatius</i> | 0.0 – | 0.0 – | 0.0 – | 7.1 (2.4) |
| <i>Holcus lanatus</i> | 0.0 – | 12.3 (8.3) | 8.5 (5.9) | 19.9 (10.2) |
| <i>Lolium perenne</i> | 0.0 – | 0.0 – | 0.0 – | 21.4 (3.0) |
| <i>Dactylis glomerata</i> | 0.0 – | 0.0 – | 1.4 (1.4) | 37.0 (5.9) |

*n = 2.

†n = 3.

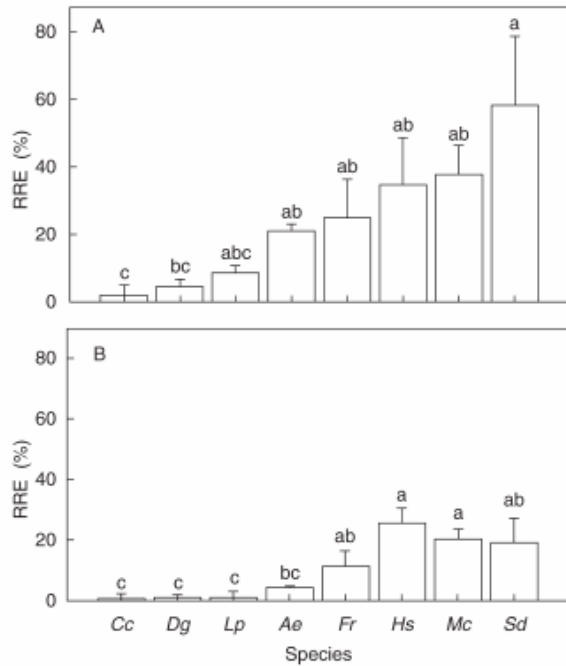


FIG. 1. Relative root elongation at 22 µM {Al³⁺} (A) and 43 µM {Al³⁺} (B). Relative root elongations of species followed by the same letter are not significantly different at $P = 0.05$. For species' abbreviations, see Table 3 footnote. Bars indicate the s.e.

As the traits are correlated between themselves (SLA – LDMC, $r = -0.77$, $P = 0.01$; SLA – LT, $r = -0.83$, $P = 0.001$; LDMC – LT = 0.33, non-significant) and the nitrogen index is correlated to SLA (0.63, $P = 0.05$) and LDMC (-0.74 , $P = 0.01$), a PCA was carried out on a selection of less redundant variables: {Al³⁺}₅₀, LDMC, LT and RGR (Fig. 2). Axis 1 separates capture strategy species (right) and conservation strategy species (left). Axis 2 opposes Al-susceptible (bottom) to Al-resistant (top) species. This distribution pattern underlines the independence between

TABLE 2. Resistance to Al and traits values of the species presenting some Al resistance in Experiment 1 (s.e. in brackets)

| Species | {Al ³⁺ } ₅₀ (µM) | RGR (mg·g ⁻¹ d ⁻¹) | SLA (m ² kg ⁻¹) | LDMC (g kg ⁻¹) |
|---------------------|---|---|---|-------------------------------|
| <i>F. rubra</i> | 8.9 (5.7) ns | 203 (3) | 11 (1) | 354 (10) |
| <i>A. elatius</i> | 9.4 (5.9) ns | 203 (4) | 30 (2) [†] | 246 (6) [†] |
| <i>M. caerulea</i> | 13.0 (4.3)** | 140 (11) | 19 (1) | 310 (4) |
| <i>H. sulcatum</i> | 13.9 (8.7) ns | 211 (7) | 18 (1) | 302 (6) |
| <i>S. decumbens</i> | 25.5 (6.0)*** | 196 (7) | 15 (1) | 351 (8) |

{Al³⁺}₅₀ and RGR were measured in a culture chamber, and foliar traits were measured in the field. {Al³⁺}₅₀ values significantly superior to zero at * $P = 0.05$, ** $P = 0.01$, *** $P = 0.001$; ns: not significant.

[†] P. Ansquer, INRA, Toulouse, France, pers. commun.

Al resistance (represented on axis 2) and functional traits (represented on axis 1).

The datum points corresponding to the grass species constitute five main groups. Species with low RGR and high LDMC (group 1) are on the whole more resistant than species with high RGR and low LDMC (group 4). However, *A. capillaris* with capture strategy traits is resistant to Al (group 2), whereas *B. inermis*, *C. cristatus*, *P. pratensis* and *F. arundinacea* with traits of intermediate strategy between capture and conservation (group 5) are sensitive to Al. *Helictotrichon sulcatum* and *A. elatius* (group 3) are intermediate between group 1 and group 4.

DISCUSSION

Ranking of Al resistance

The slow growth of *C. cristatus*, *L. perenne* and *D. glomerata* in the presence of 22 µM Al is in agreement with their high sensitivity ({Al³⁺}₅₀ 0–6 µM; Wheeler et al., 1992). The resistance of *M. caerulea* is consistent with its occurrence in acid soils with high Al/Ca ratios (Houdijk et al., 1993). The Al resistance of *S. decumbens* appears to be in agreement with observations of Antuna et al. (1980) in acid soils and with the resistance of the related species *Danthonia linkii* (Crawford and Wilkens, 1997). To our knowledge, there are no data on the Al resistance of *A. elatius*, *H. sulcatum* and the {Al³⁺}₅₀ value of these species in the literature. The value obtained for the *F. rubra* ecotype (9 µM) used as a control is lower though compatible with the range (10–20 µM {Al³⁺}₅₀) previously defined by Wheeler et al. (1992).

Stand 1 displayed an exchangeable Al rate (4.5 cmol (+) kg⁻¹; Table 1) which was intermediate between the values associated with low (2.8) and high (7.2) Al toxicity by Curtin and Smillie (1986). In spite of the acidity (pH 5.2), the much lower exchangeable Al values (0.7 and 0.2, respectively) of stands 2 and 3 suggest a very low level or the absence of Al toxicity in these stands. The absence of the species *B. pinnatum*, *M. caerulea* and *S. decumbens* in stands 2, 3 and 4 may be related to their low ability to withstand increased defoliation (disturbance indices of *M. caerulea* and *B. pinnatum* 0.10, *S. decumbens* 0.24; Grime et al., 1988). The increase in fertility from stand 1 (NNI 39%, Table 1) to stands 2 and 3 (NNI 58%) and to stand 4 (NNI 64%) may also give a competitive advantage to the species with the higher relative growth rate, as shown for *H. lanatus* and *L. perenne* by Mountford et al. (1993). Thus, increasing disturbance and competition may contribute to the exclusion of the relatively slower growing species *B. pinnatum*, *M. caerulea* and *S. decumbens* in stands 2, 3 and 4, and to the reduced abundances of *A. capillaris*, *F. rubra* and *H. sulcatum* in stand 4.

Taking into account the Al resistance values of *H. sulcatum*, *M. caerulea* and *S. decumbens* (Table 2) and those of *A. capillaris*, *F. rubra* and *H. lanatus* (Wheeler et al., 1992), the resistant grass species in the stands with Al toxicity hazard and in the control, represented up to 90 and 30% of the observed grasses, respectively (Table 1).

TABLE 3. Values for the resistance to Al ($\{Al^{3+}\}_{50}$, μM), specific leaf area (SLA, $m^2 kg^{-1}$), leaf dry matter content (LDMC, $g kg^{-1}$), leaf thickness (LT, $10^{-6} m$), relative growth rate (RGR, $g kg^{-1} d^{-1}$) and Ellenberg's acidity (H index) and nitrogen (N index) indices for 15 grass species

| Species* | $\{Al^{3+}\}_{50}$ | SLA | LDMC | LT | RGR | H index | N index |
|-----------------|--------------------|-----------------|------------------|-------|-------------------|----------|----------|
| Cc | 0.5 ¹ | 17 ⁴ | 264 ⁴ | 223 | 176 ¹⁰ | x | 4 |
| Po | 0.5 ¹ | 25 ⁶ | 220 ⁶ | 182 | 179 ¹¹ | x | 6 |
| Bi | 1.4 ² | 15 ⁶ | 310 ⁶ | 215 | 231 ⁹ | 8 | 5 |
| Pp | 2.3 ² | 31 ⁵ | 245 ⁵ | 132 | 227 ⁹ | x | 7 |
| Lp | 3.0 ¹ | 28 ⁵ | 196 ⁵ | 182 | 245 ⁸ | 7 | 7 |
| Fa | 3.5 ¹ | 17 ⁴ | 210 ⁴ | 280 | 198 ¹² | 7 | 5 |
| Dg | 6.0 ¹ | 26 ⁵ | 225 ⁵ | 171 | 255 ⁹ | x | 6 |
| Ae | 9.4 | 30 | 246 | 136 | 203 | 7 | 7 |
| Mc | 13.0 | 19 | 310 | 170 | 140 | x | 2 |
| Hs | 13.9 | 18 | 302 | 184 | 211 | — | — |
| Fr | 15.0 ¹ | 11 | 354 | 257 | 203 | 6 | x |
| Hl | 15.0 ¹ | 33 ⁵ | 198 ⁵ | 153 | 278 ⁸ | x | 5 |
| Df | 20.4 ³ | 13 ⁷ | 316 ⁷ | 243 | 173 ⁸ | 2 | 3 |
| Sd | 25.5 | 15 | 351 | 190 | 196 | 3 | 2 |
| Ac | 30.0 ¹ | 32 ⁵ | 242 ⁵ | 129 | 244 ⁸ | 4 | 4 |
| n | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 8 | 13 |
| r $\{Al\}_{50}$ | 1.00 | -0.05 | 0.42 | -0.17 | 0.03 | -0.86 | -0.61 |
| Significance | — | ns | ns | ns | ns | P = 0.01 | P = 0.05 |

* Species codes: Ac, *Agrostis capillaris*; Ae, *Arrhenatherum elatius*; Bi, *Bromus inermis*; Cc, *Cynosurus cristatus*; Dg, *Dactylis glomerata*; Df, *Deschampsia flexuosa*; Fa, *Festuca arundinacea*; Fr, *Festuca rubra*; Hl, *Holcus lanatus*; Hs, *Helictotrichon sulcatum*; Lp, *Lolium perenne*; Mc, *Molinia caerulea*; Po, *Poa pratensis*; Pp, *Phleum pratense*; Sd, *Sieglingia decumbens*.

Superscripts refer to the following publications: ¹Wheeler *et al.* (1992); ²Wheeler (1995); ³recalculated from Rorison (1985); ⁴R. Al Haj Khaled, INRA, Toulouse, France, pers. commun.; ⁵Al Haj Khaled *et al.* (2005); ⁶Meziane and Shipley (1999); ⁷S. Gaucherand, CEMAGREF, Grenoble, France, pers. commun.; ⁸Hunt and Cornelissen (1997); ⁹Taub (2002); ¹⁰Poorter and Remkes (1990); ¹¹Ryser and Wahl (2001); ¹²Sugiyama (2005). Acidity and nitrogen indices: x, species classified as indifferent; —, species not classified; Ellenberg *et al.* (1992).

Al resistance variability at the ecotype level limits the possibility of diagnosis of Al toxicity which would be based upon the presence of a particular species (e.g. *H. lanatus*; Kidd and Proctor, 2001). However, an analysis based upon the presence or absence of several species might be more reliable. The assessment of the Al toxicity hazard through the abundance of the Al-resistant grasses had the advantage of taking into account simultaneously 5–6 grass species that represented the majority of the grass species in acidic stands (Table 1). The knowledge of the Al resistance of the two other grasses investigated (*Anthoxanthum odoratum*, estimated optimum pH 4.0–6.0; *Brachypodium pinnatum*, estimated optimum pH 5.5–6.5; Antuna *et al.*, 1980; Grime *et al.*, 1988) might improve this approach.

Relationships with plant functional traits

For the species with known RGRs, the trait values obtained here are in good agreement with those reported previously (*A. elatius* 214, *F. rubra* 196; Hunt and Cornelissen, 1997). Likewise, the proposed SLA values are close to those expected for observations on infertile soils (*A. elatius* 35–37, *F. rubra* 13–15, *M. caerulea* 21–24; Poorter and de Jong, 1999). The LDMC value of *A. elatius* is in general agreement with that reported previously (218; Al Haj Khaled *et al.*, 2005).

As the species listed as indifferent to acidity (H index x) by Ellenberg were not included in the calculation of the correlation, the agreement between Al resistance and the acidity index is overestimated. In fact, the species

C. cristatus, *D. glomerata*, *P. pratense* and *P. pratensis*, listed as indifferent to acidity, appear actually to be susceptible to Al. The discrepancy may be accounted for in terms of occurrence of these species in slightly acidic grasslands with low Al activity, as a result of soil parent rock and/or organic matter content. From these discrepancies between

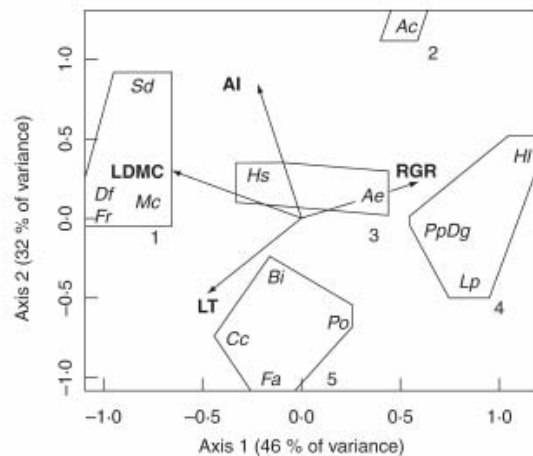


FIG. 2. First plane of the principal component analysis of traits (RGR, LDMC and LT) and Al resistance measured by the $\{Al^{3+}\}_{50}$ value (Al) for 15 grasses. Units on the axes refer to the correlation between the variables and the axes. Arbitrary units are used for the species points. For species' abbreviations, see Table 3 footnote.

H index and Al resistance and the loose negative correlation between resistance to Al and Ellenberg's nitrogen index, it can be concluded that Ellenberg's indices are only moderately useful to evaluate Al resistance of grasses.

The range of variation of traits in plants is much wider than that observed on these C₃ grasses (SLA 2–50, LDMC 100–600, LT 200–1200, Shipley et al., 2005; RGR 100–380, Poorter and Van der Werf, 1998). As a result, the independence between resistance to Al and traits may be due to the limited range of trait variation taken into account in considering C₃ grasses only. The consideration of other plant groups such as C₄ grasses, herbs, shrubs and trees might improve the relationships.

The absence of relationships between Al resistance and traits can also be accounted for in terms of data classification into several groups of species with differing Al resistance and traits (Fig. 2). Group 1 species include S-type species (*D. flexuosa*, *M. caerulea* and *S. decumbens*) and the polymorphic species *F. rubra* (C-S-R, S, C or S-C) which all exhibit a resistance to Al. Although the subject is little documented in the literature, a physiological mechanism allowing these S-type species simultaneously to adapt to infertile soils and to become resistant to Al can be considered. As a matter of fact, in *D. flexuosa*, the exudation of dicarboxylic anions such as malate is involved in a higher efficiency of P uptake in infertile soils (Tyler and Ström, 1995) and in a higher resistance to Al toxicity in acid soils (Schöttelndreier et al., 2001). The distribution of *F. rubra* and *M. caerulea* in acid soils and in calcareous soils (Grime et al., 1988) also suggests the involvement of an exudation capacity for di- or tri-carboxylic anions (Tyler and Ström, 1995). However, as the exudates of group 4 grasses and S-type grasses remain insufficiently documented, the assumption cannot be generalized.

Species groups 2, 4 and 5 correspond to C-S-R type species with regard to their ecological strategies (*A. capillaris*, *C. cristatus*, *D. glomerata*, *H. lanatus*, *L. perenne*, *P. pratense* and *P. pratensis*; Grime et al., 1988). Their Al resistance is different between groups and in some cases within the same group (*H. lanatus* vs. *L. perenne*, group 4). The comparison of the traits of the Al-resistant species of groups 2 and 4 (*A. capillaris* and *H. lanatus*) with those of the Al-resistant species (*D. flexuosa*, *F. rubra*, *M. caerulea* and *S. decumbens*) of group 1 suggests that low RGR, low SLA and high LDMC are not causally related to Al resistance. It may be in accordance with the implication of a limited number of genes in Al resistance, as suggested by Delhaize et al. (2004), with little or no relationship to global traits.

The usually low fertility (N, P) of acid soils may account for conservation strategy traits in Al-resistant species of group 1 which exhibit the highest LDMC and the lowest RGR values. These species occur in reduced abundance in more fertile and more disturbed stands. Conversely, the Al-resistant species *H. lanatus* exhibits capture strategy traits (with the highest SLA and RGR values) and presents a limited abundance in the infertile soils. The limited abundances of *A. capillaris* on stands 1 and 4 may deserve further attention. In conclusion, Al resistance alone

cannot explain the relative abundance of Al-resistant grasses in infertile or fertile acid soils. As Al-resistant species have to compete with other grasses, their abundance depends, in the first place, on their adaptation to the fertility level and to the disturbance of the habitat and, only in the second place, on their Al resistance.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Eric Lecloux for field work and laboratory assistance. We thank Yves Rauzy (Chambre d'Agriculture de l'Ariège, Foix, France) for the establishment of stand 1, Pauline Ansquer, Rauda Al Haj and Stephanie Gaucherand for communicating unpublished trait data, Michel Duru (INRA, Toulouse, France) and Daniel Sayag (ENSA, Toulouse, France) for critical review of the typescript. David R. Parker (University of California, Riverside) kindly provided us with GEOCHEM 2.0 software. V.P. received a grant from the Iranian Ministry of Science, Research and Technology.

LITERATURE CITED

- Al Haj Khaled R, Duru M, Theau JP, Plantureux S, Cruz P. 2005. Variation of leaf traits through seasons and N-availability levels and its consequences for ranking grassland species. *Journal of Vegetation Science* 16: 391–398.
- Ansquer P, Theau JP, Cruz P, Viegas J, Al Haj Khaled R, Duru M. 2004. Caractérisation de la diversité fonctionnelle des prairies à flore complexe: vers la construction d'outils de gestion. *Fourrages* 179: 353–368.
- Antuna A, Alvarez MA, Morey M. 1980. Comportamiento de gramíneas pratenses frente al pH y los carbonatos del suelo en la cuenca del Piguena – Narcea (Asturias). *Pastos* 10: 58–70.
- Austrheim G, Evju M, Mysterud A. 2005. Herb abundance and life-history traits in two contrasting alpine habitats in southern Norway. *Plant Ecology* 179: 217–229.
- Baize D, Roque J. 1998. The soils of high pastures in Beaufortin (French Alps). Mapping and peculiarities. *Ecologie* 29: 43–48.
- Causton DR. 1991. Plant growth analysis: the variability of relative growth rate within a sample. *Annals of Botany* 67: 137–144.
- Cornelissen JHC, Lavorel S, Garnier E, Diaz S, Buchmann N, Gurvich DE, et al. 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurements of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* 51: 335–380.
- Crawford SA, Wilkens S. 1997. Ultrastructural changes in root cap cells of two Australian native grass species following exposure to aluminium. *Australian Journal of Plant Physiology* 24: 165–174.
- Curtin D, Smillie GW. 1986. Effects of liming on soil chemical characteristics and grass growth in laboratory and long-term field amended soils. II. Growth of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) and bentgrass (*Agrostis tenuis*). *Plant and Soil* 95: 23–31.
- Daget P, Poissonnet P. 1971. Une méthode d'analyse phytosociologique des prairies. Critères d'application. *Annales Agronomiques* 22: 5–41.
- Delhaize E, Ryan PR, Hebb DM, Yamamoto Y, Sasaki T, Matsumoto H. 2004. Engineering high-level aluminum tolerance in barley with the *ALMT1* gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 101: 15249–15254.
- Ellenberg H, Weber HE, Düll R, Wirth V, Werner W, Paulissen D. 1992. Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa. *Scripta Geobotanica* 18: 1–258.
- Falkengren-Grerup U, Tyler G. 1993. Experimental evidence for the relative sensitivity of deciduous forest plants to high soil acidity. *Forest Ecology and Management* 60: 311–326.
- Garnier E, Shipley B, Roumet C, Laurent G. 2001. A standardized protocol for the determination of specific leaf area and leaf dry matter content. *Functional Ecology* 15: 688–695.

- Grime JP, Hodgson JG, Hunt R. 1988. *Comparative plant ecology. Functional approach to common British species*. London: Unwin Hyman.
- Hocking PJ. 2001. Organic acids exuded from roots in phosphorus uptake and aluminium tolerance of plants in acid soils. *Advances in Agronomy* 74: 63–97.
- Houdijk ALFM, Verbeek PJM, Van Dijk HFG, Roelofs JGM. 1993. Distribution and decline of endangered herbaceous heathland species in relation to the chemical composition of the soil. *Plant and Soil* 148: 137–143.
- Hunt R, Cornelissen JHC. 1997. Components of relative growth rate and their interrelations in 59 temperate plant species. *New Phytologist* 135: 395–417.
- Ihaka R, Gentleman R. 1996. R: a language for data analysis and graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 5: 299–314.
- Kidd PS, Proctor J. 2001. Why plants grow poorly on very acid soils: are ecologists missing the obvious? *Journal of Experimental Botany* 52: 791–799.
- Kinraide TB. 1991. Identity of the rhizotoxic aluminium species. *Plant and Soil* 134: 167–178.
- Kinraide TB. 2003. Toxicity factors in acidic forest soils: attempts to evaluate separately the toxic effects of excessive Al^{3+} and H^+ and insufficient Ca^{2+} and Mg^{2+} upon root elongation. *European Journal of Soil Science* 54: 323–333.
- Kinraide TB, Parker DR. 1989. Assessing the phytotoxicity of mono-nuclear hydroxyl-aluminium. *Plant, Cell and Environment* 12: 479–487.
- Kochian LV, Pineros MA, Hoekenga OA. 2005. The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminium resistance and toxicity. *Plant and Soil* 274: 175–195.
- Lemaire G, Gastal F. 1997. N uptake and distribution in plant canopies. In: Lemaire G ed. *Diagnosis of the nitrogen status in crops*. Berlin: Springer, 3–43.
- Liu HB, Heckman JR, Murphy JA. 1996. Screening fine fescues for aluminium tolerance. *Journal of Plant Nutrition* 19: 677–688.
- Meziane D, Shipley B. 1999. Interacting determinants of specific leaf area in 22 herbaceous species: effects of irradiance and nutrient availability. *Plant, Cell and Environment* 22: 447–459.
- Mountford JO, Lakhani KH, Kirkham FW. 1993. Experimental assessment of the effects of nitrogen addition under hay-cutting and aftermath grazing on the vegetation of meadows on a Somerset peat moor. *Journal of Applied Ecology* 30: 321–332.
- Nordstrom DK, May HM. 1989. Aqueous equilibrium data for mono-nuclear aluminium species. In: Sposito G ed. *The environmental chemistry of aluminium*. Boca Raton, FL: CRC Press, 29–53.
- Orsini L, Rémy JC. 1976. Utilisation du chlorure de cobaltihexamine pour la détermination simultanée de la capacité d'échange et des bases échangeables des sols. *Bulletin de l'Association Française d'Etude du Sol* 4: 269–279.
- Parker DR, Zelazny LW, Kinraide TB. 1987. Improvements to the program GEOCHEM. *Soil Science Society of America Journal* 51: 488–491.
- Poorter H, de Jong R. 1999. A comparison of specific leaf area, chemical composition and leaf construction costs of field plants from 15 habitats differing in productivity. *New Phytologist* 143: 163–176.
- Poorter H, Remkes C. 1990. Leaf area ratio and net assimilation rate of 24 wild species differing in relative growth rate. *Oecologia* 83: 553–559.
- Poorter H, Van der Werf A. 1998. Is inherent variation in RGR determined by LAR at low irradiance and by NAR at high irradiance? A review of herbaceous species. In: Lambers H, Poorter H, Van Vuuren MMI eds. *Inherent variation in plant growth. Physiological mechanisms and ecological consequences*. Leiden: Backhuys, 309–336.
- Reader RJ. 1998. Relationship between species relative abundance and plant traits for an infertile habitat. *Plant Ecology* 134: 43–51.
- Ritchie GSP. 1995. Soluble aluminium in acidic soils: principles and practicalities. *Plant and Soil* 171: 17–27.
- Roem WJ, Berendse F. 2000. Soil acidity and nutrient supply ratio as possible factors determining changes in plant species diversity in grassland and heathland communities. *Biological Conservation* 92: 151–161.
- Rorison IH. 1985. Nitrogen source and the tolerance of *Deschampsia flexuosa*, *Holcus lanatus* and *Bromus erectus* to aluminium during seedling growth. *Journal of Ecology* 73: 83–90.
- Ryser P, Urbas P. 2000. Ecological significance of leaf life span among Central European grass species. *Oikos* 91: 41–50.
- Ryser P, Wahl S. 2001. Interspecific variation in RGR and the underlying traits among 24 grass species grown in full daylight. *Plant Biology* 3: 426–436.
- Schaffers AP, Sykora KV. 2000. Reliability of Ellenberg indicator values for moisture, nitrogen and soil reaction: a comparison with field measurements. *Journal of Vegetation Science* 11: 225–244.
- Shipley B, Vile D, Garnier E, Wright IJ, Poorter H. 2005. Functional linkages between leaf traits and net photosynthetic rate: reconciling empirical and mechanistic models. *Functional Ecology* 19: 602–615.
- Schöttelndreier M, Norddahl MM, Ström L, Falkengren-Grerup U. 2001. Organic acid exudation by wild herbs in response to elevated Al concentrations. *Annals of Botany* 87: 769–775.
- Sugiyama S. 2005. Relative contribution of meristem activities and specific leaf area to shoot relative growth rate in C_3 grass species. *Functional Ecology* 19: 925–931.
- Taub DR. 2002. Analysis of interspecific variation in plant growth responses to nitrogen. *Canadian Journal of Botany* 80: 34–41.
- Tyler G. 1996. Cover distribution of vascular plants in relation to soil chemistry and soil depth in a granite rock ecosystem. *Vegetatio* 127: 215–223.
- Tyler G, Ström L. 1995. Differing organic acid exudation pattern explains calcifuge acidifuge behaviour of plants. *Annals of Botany* 75: 75–78.
- von Uexküll HR, Mutert E. 1995. Global extent, development and economic impact of acid soils. *Plant and Soil* 171: 1–15.
- Vile D, Garnier E, Shipley B, Laurent G, Navas ML, Roumet C, et al. 2005. Specific leaf area and dry matter content estimate thickness in laminar leaves. *Annals of Botany* 96: 1129–1136.
- Wenzl P, Patiño GM, Chaves AL, Mayer JE, Rao I. 2001. The high level of aluminium resistance in signalgrass is not associated with known mechanisms of external detoxification in root apices. *Plant Physiology* 125: 1473–1484.
- Wenzl P, Mandilla LI, Mayer JE, Albert R, Rao I. 2003. Simulating infertile acid soil with nutrient solutions: the effects on *Brachiaria* species. *Soil Science Society of America Journal* 67: 1457–1469.
- Wheeler DM. 1995. Relative aluminium tolerance of ten species of Gramineae. *Journal of Plant Nutrition* 18: 2305–2312.
- Wheeler DM, Edmeades DC, Christie RA, Gardner R. 1992. Effect of aluminium on the growth of 34 plant species: a summary of results obtained in low ionic strength solution culture. *Plant and Soil* 146: 61–66.
- Wilson PJ, Thomson K, Hodgson JG. 1999. Specific leaf area and leaf dry matter content as alternative predictors of plant strategies. *New Phytologist* 143: 155–162.
- Wright RJ, Baligar VC, Wright SF. 1987. Estimation of phytotoxic aluminium in soil solution using three spectrophotometric methods. *Soil Science* 144: 224–232.

Chapitre IV.
Conclusion et perspectives

1. Conclusion :

Le processus naturel de l'acidification contribue à l'extension des prairies acides et peu fertiles, notamment dans les zones humides des Pyrénées où elles sont le support d'un élevage extensif pour le lait ou la viande. La question du contrôle de l'acidité de ces prairies par le chaulage peut se poser pour des raisons de conservation du patrimoine et de la biodiversité et / ou pour des raisons agronomiques.

Pour évaluer la réponse des graminées de ces prairies naturelles à l'acidité et à la principale toxicité qui en découle (la toxicité de Al), plusieurs approches ont été réalisées: en solution nutritive en phytotron, en pot sur sol sous serre et en plein champ dans un essai à long terme et en prairie naturelle acide. En plein champ, on a mesuré dans un sol légèrement acide (pH eau 4.5 – 5.2, suivant la profondeur), l'abondance et la biomasse globale des espèces présentes naturellement et leur évolution en fonction de différents traitements combinant chaulage et fertilisation. En pot sur l'horizon B de ce même sol on a mesuré l'effet de ces traitements au niveau d'espèces représentatives, (*F. rubra*, *M. caerulea*, *S. decumbens*, *H. sulcatum*) et d'espèces non ou peu présentes dans l'essai (*H. lanatus*, *D. glomerata*, *L. perenne*). Enfin en phytotron, l'accent a été mis sur la mesure de la vitesse de croissance et sur la résistance à Al des espèces en milieu artificiel en utilisant une solution simulant un sol acide et pauvre, la mesure des racines à l'aide du logiciel Winrhizo, et le calcul de l'activité de Al en solution à l'aide du logiciel Geochem 2.0. Les résultats ont été obtenus en général sur des unités expérimentales de petite taille (3 à 5 plantes). Des effectifs plus importants (i.e 15 - 20 plantules) auraient été souhaitables, mais en raison de la place disponible (phytotron, serre) et de la difficulté d'obtention des plantules (germination, homogénéité) on a dû se contenter d'effectifs plus réduits. Malgré cela des résultats significatifs ont pu être obtenus. Ceci s'explique par des gammes de variation des facteurs étudiées très larges et des différences entre espèces de graminées prairiales considérables, pour les traits morphologiques et la réponse à l'aluminium, l'acidité et la fertilisation.

1.1. La diversité des graminées de sol acide:

1. les graminées présentes naturellement dans la parcelle la plus acide (*A. capillaris*, *B. pinnatum*, *F. rubra*, *M. caerulea*, *S. decumbens*, *H. sulcatum*) sont peu nombreuses. Elles sont à la fois adaptées aux sols acides et à un habitat peu fertile. L'augmentation de la fertilité réduit leur nombre en faisant disparaître *F. rubra*, *H. sulcatum* et *S. decumbens* et en faisant apparaître *H. lanatus*. Au contraire, le chaulage de ces sols peu fertiles conserve ces espèces

de graminées. Le cas de *B. pinnatum* est particulier; cette espèce des prairies calcaires du nord de l'Europe (Bobbink, 1991) pourrait être simplement thermophile et capable de supporter une faible acidité. La question d'une éventuelle différence de comportement entre *B. pinnatum* et *B. rupestre* et l'identité de *B. pinnatum* dans les Pyrénées (*B. pinnatum* - *B. rupestre*) et celle d'écotypes adaptés à une faible acidité n'ont pas été approfondies.

2. Lorsque l'on compare différentes prairies légèrement acides, la composition spécifique en graminées est voisine de la précédente dans la gamme pH 5.0 – 5.2, avec parfois, quelques % de *H. lanatus* et *A. odoratum*. Les graminées *D. glomerata* et *L. perenne*, en particulier, sont absentes.

3. Les graminées productives (*D. glomerata*, *H. lanatus*, *L. perenne*) n'ont été observées en abondance que dans des conditions plus fertiles et moins acides (pH 6.0) où elles dominent par rapport à *A. capillaris*, *A. elatius*, *A. odoratum* et *F. rubra*.

Les variations d'abondance des graminées entre sols acides avec potentiel de toxicité aluminique et sols acide sans toxicité aluminique sont fortes. Les résultats présentés suggèrent qu'elles peuvent servir à évaluer le risque de toxicité de Al. Considérer l'abondance des espèces sensibles et résistantes à Al pourrait être un moyen de quantifier le risque. Ce moyen pourrait suppléer à la très grande difficulté des mesures d'activité de Al dans la solution du sol.

1.2. Productivité des prairies

L'interprétation de l'essai de fertilisation et de chaulage montre que dans ces sols peu fertiles, la biomasse dépend de la fertilisation (gain de l'ordre de + 3 t ms / ha). L'essai en pot confirme l'essai de fertilisation : l'effet majeur est celui des fertilisants. L'essai en pot a permis de souligner et d'identifier le rôle de P. L'apport de P a un effet déterminant sur la biomasse aérienne ; de plus il augmente la croissance des racines par rapport au témoin, même en l'absence de chaux. Dans ce type de sol, acide et pauvre, il serait utile de tester en plein champ l'effet de P apporté à des doses modérées. Dans la pratique, pour une exploitation tardive de ces parcelles sans objectif intensif, l'état actuel de la flore est favorable. Il serait modifié par une augmentation excessive de la fertilisation qui amènerait un changement de flore, plus productive et plus précoce qui n'est pas souhaitable pour plusieurs raisons : l'impossibilité de mécanisation qui conduit à une exploitation par pâturage, et la volonté d'utilisation en pâturage tardif.

La chaux a un effet faible sur la productivité de la prairie étudiée (de l'ordre de + 0.5 t ms/ha). Sur un sol de faible acidité (pH eau > 4.5) et faible toxicité aluminique ({Al} solution

du sol médiane 1.4 – 2.9 μM) le chaulage n'a donc pas d'intérêt économique pour ce type de prairie. Il conserve cependant un intérêt patrimonial.

L'essai de culture monospécifique en pots a confirmé le faible effet du chaulage sur la biomasse aérienne des espèces naturellement présentes (*F. rubra*, *M. caerulea*, *S. decumbens*). L'effet serait plus marqué sur les espèces productives sensibles à Al comme *L. perenne* et *D. glomerata*. Le faible effet du chaulage s'explique donc par un faible niveau de toxicité de l'aluminium et par la présence de graminées adaptées à l'acidité et capables de supporter la toxicité de Al. Un chaulage de faible intensité améliore aussi la croissance racinaire et la disponibilité de P dans l'horizon chaulé.

Du point de vue des pratiques agricoles, les résultats suggèrent qu'une réflexion doit être entreprise sur la durabilité des pratiques de fertilisation de ces prairies. L'usage modéré (compensation stricte des exportations) de fertilisants de nature adaptée, non acidifiante ou peu acidifiante (KNO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KH_2PO_4) devrait être préféré à celui de l'urée, du nitrate et du phosphate d'ammonium.

Un autre aspect est celui de la qualité du fourrage. Pour évaluer l'effet global des traitements sur les graminées, la mesure des traits foliaires des différentes graminées présentes dans les traitements a été pondérée par l'abondance relative de chaque graminée. La fertilisation augmente la qualité du fourrage par diminution de la TMS et de l'épaisseur de la feuille et par augmentation de la surface spécifique foliaire. Cependant les concentrations en Al mesurées dans les graminées fertilisées de l'essai en pot (NP, CaO +NP ; 1000 – 2500 ppm) dépassent les valeurs habituellement recommandées (1000 ppm, Blake *et al.*, 1994). Cet aspect de la qualité alimentaire du fourrage mériterait une étude plus approfondie, notamment en plein champ.

1.3. La réponse des espèces à la toxicité de Al.

Aucune des graminées étudiées n'a atteint les résistances mesurées par Wenzl sur graminées tropicales (50 μM ; Wenzl, 2001). Les contraintes (surface de phytotron, nécessité de renouvellement des solutions tous les 3 jours) n'ont pas permis de manipuler plus de quatre concentrations différentes et ont conduit à un compromis dans le choix de ces concentrations. Pour une étude centrée sur un plus petit nombre d'espèces, il faudrait ajouter dans la gamme expérimentée un ou deux traitements d'activité plus faible (5 et 11 μM {Al} par exemple) pour avoir plus de précision sur la mesure des résistances à Al.

1.4. Typologie des espèces et résistance à Al

Pour typer les graminées étudiées, nous avons utilisé différents traits foliaires : surface spécifique, teneur en matière sèche, épaisseur de feuille et vitesse de croissance relative en phytotron. La TMS, l'épaisseur de feuille et la vitesse de croissance relative, combinées à la résistance à Al, ont donné une segmentation des graminées dans laquelle les traits fonctionnels apparaissent comme indépendants de la résistance à Al. On trouve ainsi des espèces résistantes à Al avec un fort RGR (*A. capillaris*, *H. lanatus*) ou un faible RGR (*F. rubra*, *M. caerulea*) avec une forte TMS (*Sd*, *Df*, *Fr*, *Mc*) ou une faible TMS (*Ac*, *Hl*). Ce résultat est en accord avec l'hypothèse d'une résistance contrôlée par un petit nombre de gènes spécifiques indépendants des grandes fonctions liées à l'architecture de la graminée.

Un petit groupe de graminées adaptées au stress (S- type, Grime *et al.*, 1988) et la fétuque rouge partagent cependant en commun, un RGR + faible, une TMS plus forte et une résistance à Al significative. Sur la base des données limitées de la bibliographie un mécanisme commun de résistance à Al par une exsudation d'acides organiques di ou tricarboxylique a été envisagé pour expliquer ce comportement. Là encore une meilleure connaissance des exsudats racinaires des graminées serait nécessaire.

2. Perspectives

Etendre la connaissance de la résistance des graminées à Al est une voie intéressante pour déterminer le risque de toxicité de Al en sol acide. Cependant, les nombreux résultats acquis ici et par d'autres auteurs démontrent la nécessité d'une approche très prudente. Chez un certain nombre d'espèces (*A. capillaris*, *A. odoratum*, *F. rubra*, *H. lanatus*) la résistance à Al varie selon le cultivar et pour les espèces sauvages selon l'origine des semences testées. Pour *H. lanatus* et *A. odoratum*, par exemple les résultats obtenus ici ont été si imprécis qu'ils ont conduit à l'hypothèse d'une hétérogénéité des graines et des individus vis-à-vis de la résistance. Cette hétérogénéité qui pourrait être de nature génétique et/ou biochimique (teneur en P des graines) n'a pas été approfondie. Pour les espèces natives, la mesure du potentiel maximum de résistance supposerait la collecte de graines dans des situations très typées et très sélectives. Cependant, dans un milieu moins sélectif, des résistances plus faibles seraient observées pour ces espèces. La gamme de toxicité révélée par la présence d'une espèce peut donc être notablement imprécise. Par exemple à Massat, la gamme d'activité de Al dans la solution du sol est de l'ordre de 1-3 μM alors que *A. capillaris* présente une résistance potentielle supérieure à 30 μM selon Wheeler *et al.* (1992 b). La présence d'espèces n'ayant aucune ou peu de résistance à Al, peut être plus facilement indicative : les espèces sensibles à

Al. *C. cristatus*, *Poa pratense*, *L. perenne* étaient absentes ou très rares (*D. glomerata*) sur ce site.

Un autre exemple de ces difficultés a été observé pour les Brachypodes. A notre connaissance, ces espèces n'ont pas été cultivées jusqu'ici en solution nutritive et cette technique de culture pourrait être optimisée. Les croissances obtenues ont été différentes selon les origines des semences : *B. pinnatum* (origine Alpine) n'est pas résistant à Al. Les résultats obtenus sur *B. pinnatum* (origine Massat - non présenté) et *B. pinnatum* (origine Ercé) suggèrent une résistance plus forte ; cependant ils sont marqués par une très forte hétérogénéité et devraient être confirmés.

Après ce travail d'évaluation globale d'un grand nombre d'espèces, la difficulté des techniques et des méthodes à utiliser nous incitent à restreindre d'éventuelles études ultérieures à un petit nombre d'espèces, avec une meilleure prise en compte de leur patrimoine génétique soit en travaillant au niveau d'espèces sélectionnées soit en étant à même de préciser par la biologie moléculaire l'expression de gènes de résistance à Al.

Concernant les applications régionales, le niveau de toxicité des prairies pyrénéennes est difficile à préciser. Les valeurs observées au Pays Basque (pH 4.8 – 5.6; 0.5 - 2 cmol+ Al³⁺ kg⁻¹ ; Pinto *et al.*; 1995) et dans cette étude (4.5 < pH < 5.2 et Al échangeable 0.1 – 4.5 cmol+ Al³⁺ .kg⁻¹) sont modérées. La mesure de l'activité de Al dans différents horizons du sol le plus acide étudié ici et l'abondance des espèces suggèrent que le niveau de toxicité aluminique est dans le domaine 1 – 10 µM {Al}. Il reste qu'il n'y a pas à notre connaissance d'information suffisante sur le niveau de toxicité aluminique d'autres sols Pyrénéens. Il pourrait être utile de repérer à l'aide des conseillers des chambres d'Agriculture des parcelles plus typées et plus acides.

Une des questions majeures soulignées dans ce travail est la nécessité de mieux comprendre l'effet positif des fertilisations, indépendamment du chaulage, dans les sols légèrement acides. Un effet analogue avait déjà été constaté sur le site de Deerpark par Curtin et Smillie (1986 b). Dans l'essai en sol il n'est pas possible d'en trouver l'origine, N P et K étant associé dans la fertilisation. Par contre, dans l'essai en pot, l'effet positif de la fertilisation phosphatée a pu être mis en évidence. La diminution de la toxicité en relation avec l'alimentation en P peut être interprétée de différentes manières :

- dans l'hypothèse où la croissance racinaire est limitée par Al et empêche une bonne exploitation du sol, l'apport de P pourrait permettre à certaines racines de couvrir la totalité des besoins en P de la plante. Dans ce cas, la croissance racinaire peut rester relativement réduite.

- dans l'hypothèse où le phosphore agit en neutralisant la toxicité de Al, soit dans le sol, soit dans la plante par complexation (Al HPO_4^+ , Pellet *et al.*, 1996) et précipitation de Al, la croissance racinaire devrait être améliorée. Cette hypothèse serait en accord avec les résultats de Miranda et Rowell (1987) et de McLaughlin et James (1991) selon lesquels l'apport de P en sol acide, même en surface, améliore l'extension en profondeur des racines de blé. Une expérience adaptée devrait permettre de préciser l'ordre de grandeur de ces effets sur les graminées prairiales.

En conclusion, la fertilisation et le chaulage des prairies naturelles extensives devraient faire l'objet de nouvelles expérimentations et recommandations. Conserver la biodiversité actuelle et réduire l'acidification naturelle des sols supposent d'envisager des pratiques durables comme le chaulage et la compensation des exportations en P et K des fourrages pâturés par des fertilisations modérées utilisant des engrais non acidifiants. L'apport d'amendements calciques même s'il n'est pas rentable est une pratique positive (dans la gamme pH 4.5 – pH 5.5) et participe à cette durabilité. Il semble important que des essais à long terme puissent être pris en charge et conservés par des institutions (conservatoires botaniques, chambres d'agriculture) pour permettre de suivre ces phénomènes d'acidification et d'évolution de flore sur de longues périodes.

References

- Aerts R, Chapin FS III. 2000.** The mineral nutrition of wild plants revisited : are evaluation of process and patterns. *Advances in Ecological Research*. **30** : 2-67.
- Alva AK, Edwards DG, Asher CJ, Blamey FPC 1986** Effects of phosphorus/aluminum molar ratio and calcium concentration on plant response to aluminium toxicity. *Soil Science Society of America Journal*. **50**: 133–137.
- Al Haj Khaled R, Duru M, Therau JP, Plantureux S, Cruz P. 2005.** Variations in leaf traits through seasons and N-availability levels and its consequences for ranking grassland species? *Journal of Vegetation Science* **16**:391-398.
- Al Haj Khaled R, Duru M, Decruyenaere V, Jouany C, Cruz P. 2006.** Using leaf trait to rank native grasses according their nutritive value. *Rangeland, Ecology & Management* **59**:648-654.
- Antuna A, Alvarez MA, Morey M. 1980.** Comportamiento de gramíneas pratenses frente al pH y los carbonatos del suelo en la cuenca del Piguena - Narcea (Asturias). *Pastos* **10**: 58-70.
- Ansquer P, Theau JP, Cruz P, Viegas J, Al Haj Khaled R, Duru M. 2004.** Caractérisation de la diversité fonctionnelle des prairies à flore complexe: vers la construction d'outils de gestion. *Fourrages* **179**: 353-368.
- Austrheim G, Evju M, Myrnes A. 2005.** Herb abundance and life-history traits in two contrasting alpine habitats in southern Norway. *Plant Ecology* **179**: 217-229.
- Baath E, Anderson TH. 2003.** Comparison of soil fungal/bacterial ratios in a pH gradient using physiological and PLFA-based techniques. *Soil Biology and Biochemistry* **35**: 955–963.
- Bahmani I, Pervanchon F, Plantureux S, Girardin P. 2002.** Development of an agri-environmental indicator assessing the impact of nitrogen input on grassland biodiversity. The 19th General Meeting of the European Grassland Federation, La Rochelle, France: 658-659.
- Baize D, Roque J. 1998.** The soils of high pastures in Beaufortin (French Alps). Mapping and peculiarities. *Ecologie* **29**: 43-48.
- Belanger G, Gastal G, Warembourg FR. 1994.** Carbon balance of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.): Effects of nitrogen fertilization and the growing season. *Annals of Botany* **74**: 653-659.
- Blake L, Johnston AE, Goulding KWT. 1994.** Mobilization of aluminium in soil by acid deposition and its uptake by grass cut for hay – a chemical Time Bomb. *Soil Use and Management* **10**: 51-55.
- Bobbink R, Willems JH. 1987** Increasing dominance of *Brachypodium pinnatum* (L.) Beauv. in chalk grasslands: a threat to a species-rich ecosystem. *Biological Conservation* **40**: 301- 314.

- Bolan NS, Adriano DC, Curtin D. 2003.** Soil Acidification and Liming Interactions with Nutrient and Heavy Metal Transformation and Bioavailability. *Advances in Agronomy* **78**: 215-272.
- Bonischot R. 1986.** Faut-il chauler les prairies permanentes ? SNST – Service Recherche et Experimentation. ACTA.130-137.
- Boeker P. 1969.** Einfluss der Basenversorgung auf die bestandszusammensetzung und der Grünlandertrag. *Landwirtschaftliche Forschung, Sonderheft* **23**: 147-156.
- Bouma TJ, Nielsen KL, Koutstaal B. 2000.** Sample preparation and scanning protocol for computerised analysis of root length and diameter. *Plant and Soil* **218**: 185-196.
- Calba H, Firdaus, Cazevielle P, Théé C, Poss R, Jaillard B. 2004.** The dynamics of protons, aluminium, and calcium in the rhizosphere of maize cultivated in the tropical acid soils: experimental study and modelling. *Plant and soil* **260**: 33-46.
- Calba H, Jaillard. 1997.** Effect of aluminium on ion uptake and H⁺ release by maize. *New Phytology* **137**: 607 – 616.
- Callot G, Chamayou H, Maertens M, Salsac L. 1982.** Les interactions sol racine: incidence sur la nutrition minérale. INRA, Paris, 325 pages
- Caloin M, YU O. 1984.** Analysis of the time course of change in nitrogen content in *Dactylis glomerata* L. using a model of plant growth. *Annals of botany* **54** : 69 – 76.
- Castillon P. 1998.** Résultats de 13 essais de chaulage des prairies. *Document interne*, Comifer-Chaulage, 9 pages.
- Causton DR. 1991.** Plant Growth Analysis: The Variability of Relative Growth Rate Within a Sample. *Annals of Botany* **67** : 137-144.
- Charmet G, Balfourier F. 1994.** Influence of ecological factors on population differentiation in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution* **41**: 175 – 184.
- Cheplick GP. 1991.** A conceptual framework for the analysis of phenotypic plasticity and genetic constraints in plants. *Oikos* **62** : 283-291.
- Clarkson DT. 1966.** Calcium uptake by calcicole and calcifuge species in the genus *Agrostis* L. *Journal of Ecology* **53**: 427-35.
- Clarkson DT. 1966.** Aluminium tolerance in species within the genus *Agrostis*. *Journal of Ecology* **54**: 167-178.
- Curtin D, Smillie GW. 1986a.** Effects of liming on soil chemical characteristics and grass growth in laboratory and long – term field amended soils. I. Soil Chemistry. *Plant and Soil* **95**: 15-22.

Curtin D, Smillie GW. 1986b. Effects of liming on soil chemical characteristics and grass growth in laboratory and long – term field amended soils. II. Growth of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) and bentgrass (*Agrostis tenuis*). *Plant and Soil* **95**: 23-31.

Curtin D, Smillie GW. 1995. Effects of incubation and pH on soil solution and exchangeable cation ratios. *Soil Science Society of America journal* **59**: 1006-1011.

Daget P, Poissonnet P. 1971. Une méthode d'analyse phytosociologique des prairies. Critères d'application. *Annales Agronomiques* **22**: 5-41.

Davies MS, Snaydon RW. 1973. Physiological differences among populations of *Anthoxanthum odoratum* L. collected from the Park Grass experiment, Rothamsted. II. Reponse to aluminium. *Journal of Applied Ecology* **10**: 47-55.

Delhaize E, Ryan PR, Randall PJ. 1993. Aluminium tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). II. Aluminium stimulated excretion of malic acid from root apices. *Plant Physiology* **103**: 695-702.

Delhaize E, Ryan PR, Hebb DM, Yamamoto Y, Sasaki T, Matsumoto H. 2004. Engineering high-level aluminium tolerance in barley with the ALMT1 gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **101**: 15249-15254.

Duru M, Thellier-Huché L. 1997. N and P-K status of herbage: use for diagnosis of grasslands. Diagnostic procedures for crop N management and decision making Lemaire G; Burns I.G. Poitiers. *Les colloques* p.124 – 128.

Duru M, Colomb B, Cransac Y, Fardeau JC, Julien JL, Rozière M. 1993. Pédoclimat, fertilisation et croissance des prairies permanentes au printemps. I. Variabilité de la nutrition minérale. *Fourrages* **133**: 23 – 41.

Duru M. 1992. Diagnostic de la nutrition minérale de prairies permanentes au printemps. I. Etablissement de references. *Agronomie* **12**: 219 – 233.

Eckstein RL, Karlsson PS, Weih M. 1999. Leaf life span and nutrient resorption as determinants of plant nutrient conservation in temperate-artic regions, *New phytologist* **143**, 177-189.

Edmeades DC, Blarney FPC, Asher CJ, Edwards DG. 1991. Effects of pH and aluminium on the growth of temperate pasture species. II. Growth and nodulation of legumes. *Australian journal of agricultural research* **42**:893-900.

Elberse W. TH, Berendse F. 1993. A comparative study of the growth and morphology of eight grass species from habitats with different nutrient availabilities. *Functional Ecology*. **7**: 223-229.

- Elberse WTH, van den Bergh J.P, Dirven JGP. 1983.** Effects of use and mineral supply on the botanical composition and yield of old grassland on heavy-calcy soil. *Netherlands Journal of Agricultural Science* **31**: 63-88.
- Ellenberg H, Weber HE, Düll R, Wirth V, Werner W, Paulissen D. 1992.** Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa. *Scripta Geobotanica* **18**: 1-258.
- Elliott DE, Reuter DJ, Reddy GD, Abbott RJ. 1997.** Phosphorus nutrition of spring wheat (*Triticum aestivum* L.). 2. Distribution of phosphorus in glasshouse-grown wheat and the diagnosis of phosphorus deficiency by plant analysis. *Australian Journal of Agricultural research* **48**: 869-81.
- Erisman JW, Draaijers GPJ. 1995.** Atmospheric deposition in relation to acidification and eutrophication. *Studies in Environmental Science* **63**: 405-444.
- European Environment Agency, EEA. 1999.** Environment in the European Union at the turn of the century. Chapter 3.15. p. 377-396.
- Evans GC. 1972.** The Quantitative Analysis of Plant Growth. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Fabre B, Kockmann F. 2006.** Les effets du chaulage sur les prairies permanentes ou de longue durée. *Synthèse bibliographique. Fourrages* **185**: 103-122.
- Falkengren-Grerup U, Tyler G.1993.** Experimental evidence for the relative sensitivity of deciduous forest plants to high soil acidity. *Forest Ecology and Management* **60**: 311-326.
- Falkengren – Grerup U, Brunet J, Quist ME, Tyler G. 1995.** Is the Ca: Al ratio superior to pH, Ca or Al concentrations of soils in accounting for the distribution of plants in deciduous forest? *Plant and Soil* **177**: 21-31.
- Fisher GEJ, Rahmann G. 1997.** Extensification – benefits and disadvantages to grassland biodiversity, in: Management for grassland biodiversity, *Proceedings of the International Occasional Symposium of the European Grassland Federation* 115–123.
- Fothergill M, Davies DA, Morgan CT, Jones S, Rees E. 2002.** Changes in floristic diversity associated with reductions of fertilizer inputs and grazing to upland pasture. Multi-function-grasslands:-quality-forages,-animal-products-and-landscapes-Proceedings-of-the-19th-General Meeting of the European Grassland Federation, La Rochelle, France, pp. 784–785.
- Foy CD. 1988.** Plant adaptation to acid. aluminium-toxic soils. *Communication in Soil Science and Plant Analysis* **19**:959-987.
- Garnier E, Laurent A, Bellmann A, Debain S, Berthelie P, Ducout C, Navas ML. 2001a.** Consistency of species ranking based on functional leaf traits. *New Phytologist*. **152**: 69-83.

- Garnier E, Shipley B, Roumet C, Laurent G. 2001b.** A standardized protocol for the determination of specific leaf area and leaf dry matter content. *Functional Ecology* **15**: 688–695.
- Garnier E, Salager JL, Laurent G, Sonié L. 1998.** Relationships between photosynthesis, nitrogen and leaf structure in 14 grass species and their dependence on the basis of expression. *New phytologist* **143**: 119-129.
- Gordon M, Daget PH, Emberger L, Long G, Le Floc'h E, Poisonet J. 1968.** Sauvage Ch., Wacquart Jp: Code pour le relevé méthodique de la végétation et du milieu CNRS Paris 292 pages.
- Greenwood DJ, Gastal F, Lemaire G, Draycott A, Millard P, Neeteson JJ. 1991.** Growth rate and %N of field grown crops: theory and experiments. *Annals of Botany* **67**: 181 – 190.
- Greenwood DJ, Gastal F, Lemaire G, Gosse P, Cruz P, Draycott A, Neeteson JJ. 1990.** Decline in percentage N of C3 and C4 crops with increasing plant mass. *Annals of Botany* **66**: 425 – 436.
- Grime JP, Hodgson JG, Hunt R. 1988.** *Comparative Plant Ecology. Functional Approach to Common British Species*. London: Unwin Hyman.
- Grime JP, Crick JC, Ricon JE. 1986.** The ecological significance of plasticity. In: Jennings DH & Trewavas AJ (eds) *Plasticity in Plants*. The Company of Biologists Limited, Cambridge. pp 5-29
- 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.
- Hinsinger P, Plassard C, Tang C, Jaillard B. 2003.** Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: A review. *Plant and soil* **248**: 43-59.
- Houdijk ALFM, Verbeek PJM, Van Dijk HFG, Roelofs JGM. 1993.** Distribution and decline of endangered herbaceous heathland species in relation to the chemical composition of the soil. *Plant and Soil* **148**: 137-143.
- Hunt R, Cornelissen JHC. 1997.** Components of relative growth rate and their interrelations in 59 temperate plant species. *New Phytologist* **135**: 395 – 417.
- Huyghe C, Bournoville R, Couteaudier Y, Duru M, Gensollen V, Lherm M, Peyraud L. 2005.** Prairies et cultures fourragères en France. Entre logiques de production et enjeux territoriaux 226p.

- Ihaka R, Gentleman R. 1996.** R : a language for data analysis and graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics* **5** : 299-314.
- Johnston A. 1997.** The value of long-term field experiments in agricultural, ecological, and environmental research. *Advances in Agronomy* **59**: 291-333.
- Jones D. 1998.** Organic acids in the rhizosphere – a critical review. *Plant and soil* **205**: 25 – 44.
- Jorge R, Arruda P. 1997** Aluminium-induced organic acids exudation by roots of an aluminium-tolerant tropical maize. *Phytochemistry* **45**: 675–681.
- Kamprath E J.1970.** Exchangeable Al as a criterion for liming leached mineral soils. *Soil Science Society of America Proceeding* **34**: 252 - 254.
- Kemmitt SJ, Wright David, Goulding Keith WT, Jones David L. 2006.** pH regulation of carbon and nitrogen dynamics in two agricultural soils. *Soil Biology & Biochemistry* **38**: 898–911.
- Kidd PS, Proctor J. 2001.** Why plants grow poorly on very acid soils: are ecologists missing the obvious? *Journal of Experimental Botany* **52**: 791- 799.
- Kinraide, TB. 1991.** Identity of the rhizotoxic aluminium species. *Plant and Soil* **134**: 167-178.
- Kinraide TB. 2003.** Toxicity factors in acidic forest soils: attempts to evaluate separately the toxic effects of excessive Al^{3+} and H^+ and insufficient Ca^{2+} and Mg^{2+} upon root elongation. *European Journal of Soil Science* **54**: 323-333.
- Kinraide TB, Parker DR. 1989.** Assessing the phytotoxicity of mononuclear hydroxyl-aluminium. *Plant, Cell and Environment* **12**: 479–487.
- Kochian LV, Pineros MA, Hoekenga OA. 2005.** The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminium resistance and toxicity. *Plant and Soil* **274**: 175-195.
- Kopec S. 1997.** Effects of liming on the floristic diversity of degraded mountain. Management for Grassland biodiversity Proceedings of the International Occasional Symposium of the European Grassland Federation, Warszawa omza, Poland, 81-85.
- Last FT. 1991.Critique.** In: Last F.T and Watling R. [Eds]: Acid deposition: its nature and impacts. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh* **97**: 273-324.
- Lemaire G, Gastal F. 1997.** N uptake and distribution in plant canopies in Diagnosis of the nitrogen status in crops. Lemaire G. Ed. Springer, Berlin, pages 4-43.
- Lemaire G, Salette J. 1984.** Relation entre dynamique de croissance et dynamique de prélèvement d'azote pour un peuplement de graminées fourragères : I. Etude de l'effet du milieu. *Agronomie* **4** : 423-430.

- Lenoble ME, Blevins DG, Miles RJ. 1996.** Prevention of aluminium toxicity with supplemental boron. II. Stimulation of root growth in an acidic, high-aluminium subsoil. *Plant, Cell Environment* **19**: 1143 – 1148.
- Le livre blanc MEAC 2006.** Groupe MEAC SAS, StGeorges sur Eure. 82 pages.
- Li XF, Ma JF, Matsumoto H. 2000.** Pattern of aluminium-induced secretion of organic acids differs between Rye and Wheat. *Plant Physiology* **123**: 1537-1543.
- Liu H, Heckman JR, Murphy JA. 1997.** Aluminium tolerance among genotypes of *Agrostis* species. *International Turfgrass Society Research Journal* **8** : 729 – 734.
- Liu HB, Heckman JR, Murphy JA. 1996.** Screening fine fescues for aluminium tolerance. *Journal of Plant Nutrition* **19**: 677-688.
- Ma JF, Miyasaka SC. 1998.** Oxalate exudation by Taro in response to Al. *Plant Physiology* **118**: 861-865.
- Malhi SS, Nyborg M, Harapiak JT. 1998.** Effects of long-term N fertilizer-induced acidification and liming on micronutrients in soil and in brome grass hay. *Soil Tillage Research* **48**: 91-101.
- Malinovski DP, Belesky DP. 2000.** Adaptation of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: mechanisms of drought and mineral stress tolerance. *Crop Science* **40**: 923 – 940.
- Marriotta CA, Fothergillb M, Jeangrosc B, Scottond M, Louaulte F. 2004.** Long-term impacts of extensification of grassland management on biodiversity and productivity in upland areas. A review. *Agronomie* **24**: 447-462.
- Marschner H. 1995.** Mineral nutrition of higher plants. second edition. 889pp. Academic Press, London.
- McCormick LH, Borden FY. 1972.** Phosphate fixation by aluminium in plant roots. *Soil Science Society of America Proceedings* **36**:799-802.
- McLaughlin MJ, James TR. 1991.** Effect of phosphorus supply to the surface roots of wheat on root extension and rhizosphere chemistry in an acidic subsoil. *Plant and soil* **134**: 73-82.
- McLaughlin MJ, James TR. 1989.** The effect of subsurface aluminium on the growth and uptake of surface-applied phosphorus by wheat seedlings. *Journal of plant nutrition* **12**: 603 – 620.
- Mengel K, Kirkby, EA. 1987.** Principles of plants nutrition. Bern, International Potash Institute. 687 pages.
- Mengel K, Kirkby EA, Kosegarten H, Appel T. 2001.** Principles of plant nutrition. Kluwer, Dordrecht, 849 pages.

- Meziane D, Shipley B. 1999.** Interacting determinants of specific leaf area in 22 herbaceous species : effects of irradiance and nutrient availability. *Plant, Cell and Environment* **22**: 447-459
- Miranda LN, Rowell DL. 1987.** The effects of lime and phosphorus on the function of wheat roots in acid top soils and subsoils. *Plant and Soil* **104**: 253-262.
- Moog D, Poschlod P, Kahmen S, Schreiber KF. 2002.** Comparison of species composition between different grassland management treatments after 25 years. *Applied Vegetation Science* **5**: 99–106.
- Mora ML, Cartes P, Demanet R, Cornforth IS. 2002.** Effect of lime and gypsum on pasture growth and composition on an acid andisol in Chile, South America. *Communication in Soil Science and Plant Analysis* **33**: 2069-2081.
- Mountford JO, Lakhani KH, Kirkham FW. 1993.** Experimental assessment of the effects of nitrogen addition under hay-cutting and aftermath grazing on the vegetation of meadows on a Somerset peat moor. *Journal of Applied Ecology* **30**, 321-332.
- Murphy J, Riley JP. 1962.** A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytical Chemistry Acta* **26**: 31-36.
- Nordstrom DK, May HM. 1989.** Aqueous equilibrium data for mononuclear aluminium species. In: Sposito G ed. *The environmental chemistry of aluminium*. Boca Raton, FL: CRC Press, 29–53.
- Nyborg M, Hoyt PM. 1978.** Effects of soil acidity and liming on mineralization of soil nitrogen. *Canadian Journal of Soil Science* **58**: 331-338.
- Orsini L, Remy JC. 1976.** Utilisation du chlorure de cobaltihexamine pour la détermination simultanée de la capacité d'échange et des bases échangeables des sols. *Science du Sol* **4**: 269-275.
- Parker DR, Zelazny LW, Kinraide TB. 1987.** Improvements to the program GEOCHEM *Soil Science Society of America Journal* **51**: 488-491
- Pellet D, Papernik LA, Kochian LV. 1996.** Multiple aluminium-resistance mechanisms in wheat: Roles of root apical phosphate and malate exudation. *Plant Physiology* **112**: 591-597.
- Pinto M, Rodriguez M, Besga G. 1995.** Effects of Linz-Donawitz (LD) slag on soil properties and pasture production in the Basque country (Northern Spain). *New Zealand Journal of Agricultural Research* **38**: 143-155.
- Pierre WH, Stuart AD. 1933.** Soluble aluminum studies: IV. The effects of phosphorus in reducing the detrimental effects of soil acidity on plant growth. *Soil Science* **36**: 211-226.
- Plantureux S, Peeters A, McCracken D. 2005.** Biodiversity in intensive grasslands: Effect of management, improvement and challenges. *Agronomy Research* **3**: 153-164.

- Poorter H, de Jong R. 1999.** A comparison of specific leaf area, chemical composition and leaf construction costs of field plants from 15 habitats differing in productivity. *New Phytologist* **143**: 163–176.
- Poorter H, Remkes C. 1990.** Leaf area ratio and net assimilation rate of 24 wild species differing in relative growth rate. *Oecologia* **83**: 553–559.
- Poozesh V, Al Haj Khaled R, Ansquer P, Theau GP, Duru M, Bertoni G, Cruz P. 2005.** Are leaf traits stable enough to rank native grasses in contrasting growth conditions, XXth International Grassland Congress: Offered Papers ;page 209.
- Rengel Z. 2002.** Genetic control of root exudation. *Plant and Soil* **245**: 59–70.
- Ritchie GSP. 1995.** Soluble aluminium in acidic soils: principles and practicalities. *Plant and Soil* **171**: 17-27.
- Roche P, Díaz-Burlinson N, Gachet S. 2004.** Congruency analysis of species ranking based on leaf traits: which traits are the more reliable? *Plant Ecology* **174**: 37-48.
- Roem WJ, Berendse F. 2000.** Soil acidity and nutrient supply ratio as possible factors determining changes in plant species diversity in grassland and heathland communities. *Biological Conservation* **92**: 151±161
- Roem WJ, Klees H, Berendse F. 2002.** Effects of nutrient addition and acidification on plant species diversity and seed germination in heathland. *Journal of Applied Ecology* **39**: 937-948.
- Rufty JRTW MacKown CT Lazof DB , Carter TE, 1995.** Effects of Aluminium on nitrate uptake and assimilation. *Plant Cell and Environment*, **18**: 1325- 1331
- Ryan PR, Delhaize E, Randall PJ. 1995a.** Malate efflux from root apices and tolerance to aluminum are highly correlated in wheat. *Australian Journal of Plant Physiology* **122**: 531 – 536.
- Ryser P, Wahl S. 2001.** Interspecific variation in RGR and the underlying traits among 24 grass species grown in full daylight. *Plant Biology* **3**: 426–436.
- Ryser P. 1996.** The importance of tissue density for growth and life span of leaves and roots : a comparison of five ecologically contrasting grasses. *Functional Ecology* **10**: 717-723.
- Ryser P, Lambers H. 1995.** Root and leaf attributes accounting for the performance of fast and slow-growing grasses at different nutrient supply. *Plant Soil* **170**: 251-265.
- Sampoux JP. 2006.** Etude des déterminants environnementaux de la structuration spatiale de la diversité spontanée inter et intra spécifique des fétuques à feuilles fines. 6ème Colloque National des Ressources Génétiques, La Rochelle, 2006.

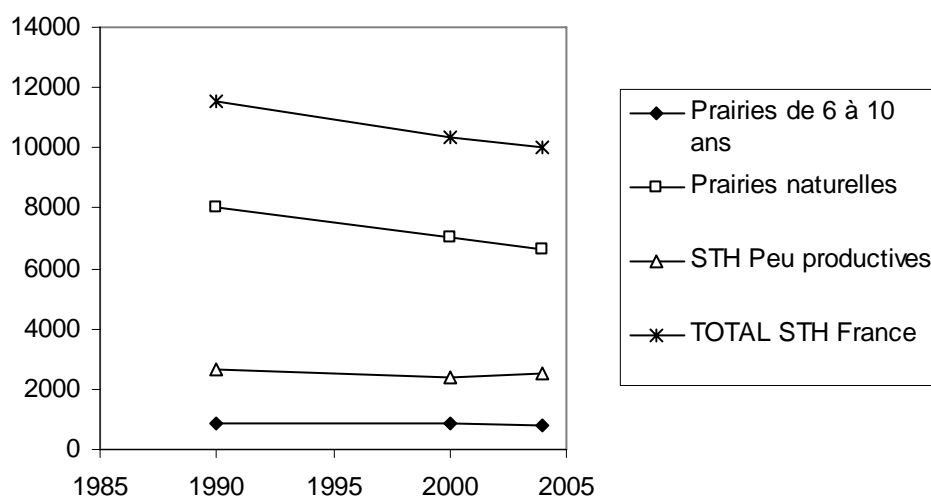
- Sasaki T, Yamamoto Y, Ezaki B, Katsuhara M, Ahn SJ, Ryan PR, Delhaize E, Matsumoto H. 2004.** A wheat gene encoding an aluminum-activated malate transporter. *Plant Journal*. **37**: 645–653.
- Schöttelndreier M, Norddahl MM, Ström L, Falkengren-Grerup U. 2001.** Organic acid exudation by wild herbs in response to elevated Al concentrations. *Annals of Botany* **87**: 769-775.
- Scott BJ, Ridley AM, Conyers MK. 2000.** Management of soil acidity in long – term pastures of south – eastern Australia: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* **40**: 1173-1198.
- Shen R, Ma JF, Kyo M. 2002.** Compartmentation of aluminium in leaves of an Al-accumulator, *Fagopyrum esculentum* Moench. *Planta* **215**: 394-398.
- Shoemaker HE, Mclean EO, Pratt PF. 1961.** Buffer methods for determining lime requirements of soils with appreciable amounts of extractable aluminium. *Soil Science Society of America Proceeding* **25**: 274 – 277.
- Smith RS, Shiel RS, Bardgett RD, Millward D, Corkhill P, Rolph G, Hobbs PJ, Peacock S. 2003.** Soil microbial community, fertility, vegetation and diversity as targets in the restoration management of a meadow grassland. *Journal of Applied Ecology* **40 (14)**: 51-64.
- Smucker AJM, McBurney SL, Srivastava AK. 1982.** Quantitative Separation of Root from Compacted Soil Profiles by the Hydropneumatic Elutriation System. *Agronomy Journal* **74** : 500 – 503.
- Snaydon RW 1970.** Rapid population differentiation in a mosaic environment. I Response of *Anthoxanthum odoratum* L. to soils. *Evolution* **24**: 257-269
- Sposito G, Coves J. 1998.** Soilchem : a computer program for the calculation of chemical speciation. University of California Riverside and Berkley, Kearney Foundation of Soil Sciences.
- Springett JA, Syers JK. 1984.** Effect of pH and calcium content of soil on earthworm cast production in the laboratory. *Soil Biology and Biochemistry* **16** : 185-189.
- Stevens RJ, Laughlin RJ. 1996.** Effects of lime and nitrogen fertilizer on two sward types over a 10-year period. *Journal of Agricultural Science* **127**: 451-461.
- Sugiyama S. 2005.** Relative contribution of meristem activities and specific leaf area to shoot relative growth rate in C3 grass species. *Functional Ecology* **19**: 925–931.
- Taub DR. 2002.** Analysis of interspecific variation in plant growth responses to nitrogen. *Canadian Journal of Botany* **80**: 34–41.
- Thornton B. 1997.** Influence of pH and aluminium on nitrogen partitioning in defoliated grasses. *Grass and Forage Science* **53**: 170 – 178.

- Tyler 1994.** A new approach to understanding the calcifuge habit of plants. *Annals of Botany* **73**: 327-330.
- Tyler G, Ström L. 1995.** Differing Organic Acid Exudation Pattern Explains Calcifuge and Acidifuge Behaviour of Plants. *Annals of Botany* **75**:75-78.
- Van der Werf, Schieving AF, Lambers H. 1993b.** Evidence for optimal partitioning of biomass and nitrogen at a range of nitrogen availabilities for a fast- and slow-growing species. *Functional Ecology* **7**: 63-74.
- van Lynden G.WJ. 1995.** European Soil Resources: Current Status of Soil Degradation, Causes, Impacts and Need for Action. Nature and Environment Report 71. Council of Europe, Strasbourg.
- von Uexküll HR, Mutert. E. 1995.** Global extent, development and economic impact of acid soils. *Plant and Soil* **171** (1): 1-15.
- Véron F, Thiébaud F, Cozic P, Dobremez L. Ernoult C. 2001.** Evolution des surfaces fourragères en France de 1988 à 1997. Analyse de l'impact de la prime au maintien des systèmes d'élevage extensifs. *Fourrages* **168**: 435-448.
- Vile D, Garnier E, Shipley B, Laurent G, Navas ML, Roumet C. 2005.** Specific leaf area and dry matter content estimate thickness in laminar leaves. *Annals of Botany* **96**: 1129–1136.
- Weihner E, van der Werf A, Thompson K, Roderick M, Garnier E, Eriksson O. 1999.** Challenging Theophrastus : A common core list of plant traits for functional ecology. *J. of Vegetation Science* **10**: 609-620.
- Wenzl P, Patino GM, Chaves AL, Mayer JE, Rao I. 2001.** The high level of aluminium resistance in signalgrass is not associated with known mechanisms of external detoxification in root apices. *Plant Physiology* **125**: 1473-1484.
- Wenzl P, Mancilla LI, Mayer JE, Albert R, Rao I. 2003.** Simulating infertile acid soils with nutrient solutions : the effects on brachiaria species. *Soil Science Society of America Journal* **67**: 1457-1469
- Westoby M. 1998.** A leaf-height-seed (LHS) plant ecology strategy scheme. *Plant and Soil* **199**: 213-227.
- Wheeler DM, Edmeades DC, Christie RA, Gardner R. 1992.** Effet of aluminium on the growth of 34 plant species : a summary of results obtained in low ionic strength solution culture. *Plant and Soil* **146**: 61-66
- Wheeler DM. 1995.** Relative aluminium tolerance of ten species of Gramineae. *Journal of Plant Nutrition* **18**: 2305-2312.

- Williams ED. 1985.** Long-term effects of fertilizer on the botanical composition and soil seed population of a permanent grass sward. *Grass and Forage Science* **40**: 479-483.
- Wilson P, Thompson K, Hodgson J. 1999.** Specific leaf area and leaf dry matter content as alternative predictors of plant strategies. *New Phytologist* **143**: 155-162.
- Wilson PJ, Thompson K, Hodgson JG. 1999.** Specific leaf area and leaf dry matter content as alternative predictors of plant strategies. *New phytologist* **143**: 155-162.
- Witkowski F, B. Lamont. 1991.** Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia* **88**: 486-493.
- World Resources Institute. 2000.** World Resources 2000-2001. World Resources Institute, Washington DC, 389p.
- Wright RJ, Baligar VC, Wright SF. 1987.** Estimation of phytotoxic aluminium in soil solution using three spectrophotometric methods. *Soil Science* **144**: 224-232.
- Wright RJ, Baligar VC, Ritchey KD, Wright SF. 1989.** Influence of soil solution aluminium on root elongation of wheat seedlings. *Plant and Soil* **113**: 294-298.

Annexes

Annexe 1. Données statistiques



Evolution de la surface toujours en herbe et des prairies en France de 1980 à 2003 en milliers d'hectare (source Agreste)

Evolution des surfaces de prairies naturelles et de prairies peu productives de 1997 à 2005 ; Rdt = rendement (Source Agreste)

| | | 1997 | | 2005 | | |
|--|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------------|
| | | surface (ha) | Rdt (tms/ha) | surface (ha) | Rdt (tms/ha) | Δ surface (%) |
| Prairies naturelles ou semées depuis plus de 10 ans | Ariège | 42 700 | 3.6 | 43 500 | 3.9 | 1.9 |
| | Midi Pyrénées | 429 980 | 3.7 | 399 474 | 4.3 | -7.1 |
| Prairies peu productives | Ariège | 114 200 | 0.9 | 104 600 | 0.7 | -8.4 |
| | Midi Pyrénées | 444 200 | 1.5 | 375 023 | 1.4 | -15.6 |
| Total STH | Ariège | 161 400 | 1.7 | 149 800 | 1.7 | -7.2 |
| | Midi Pyrénées | 950 060 | 2.8 | 859 058 | 3.1 | -9.6 |

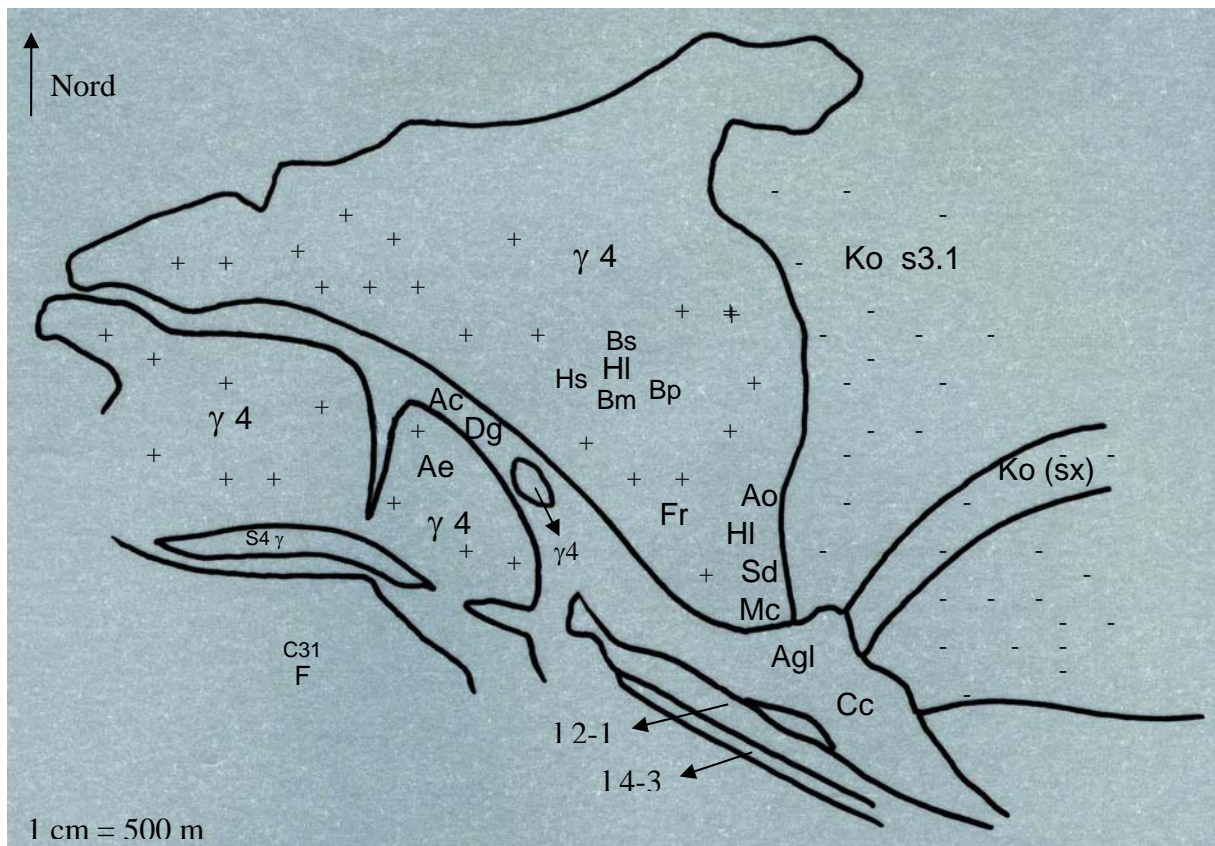
Annexe 2 Cartographie et géologie de la zone de récolte des semences

γ 4 granodiorite : massif d'Ercé
 Ko cambro ordovicien : complexe schistogréseux
 s4 silurien
 c31 albien
 l 2-1, l 4-3 lias
 Agl alluvions glaciaires
 F Alluvions récentes

La plupart des espèces sont récoltées sur la zone acide issue de l'altération de γ 4 : Ae Ao, Bp brachypodium pinnatum, Bs, Hl, Mc. Les types de sols dérivés de l'altération de cette roche mère sont décrits comme des sols acides variant entre le type brun acide, le type cryptopodzolique et le type alocrisol (Chambre régionale d'Agriculture Midi - Pyrénées, 1995)

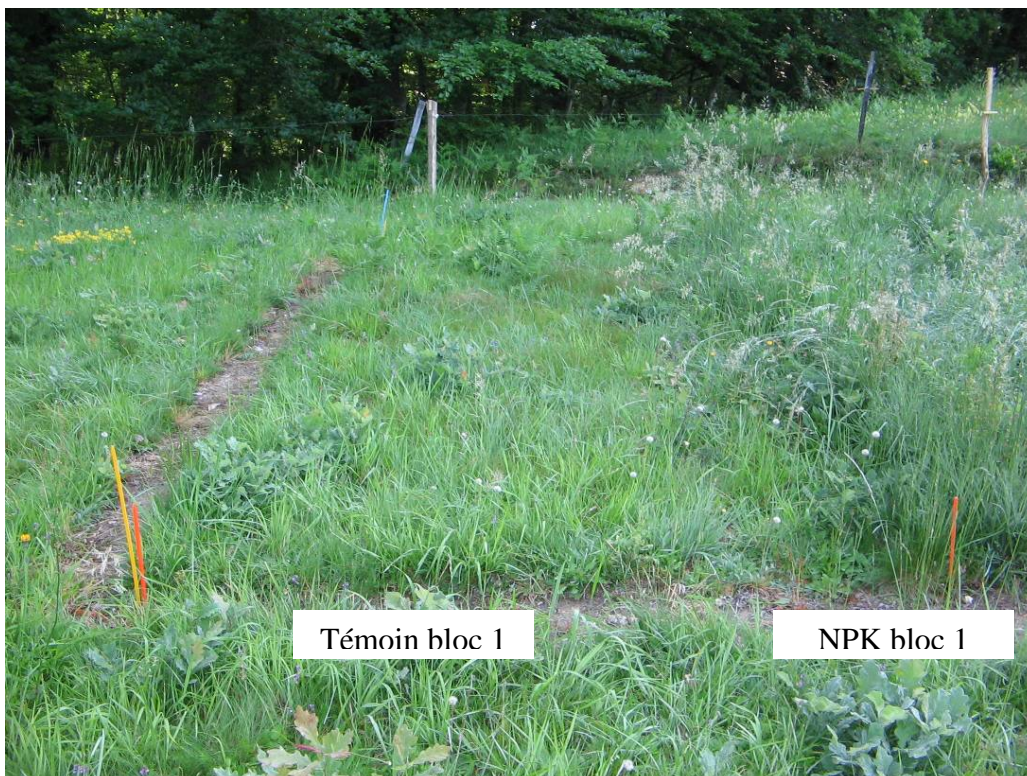
Dg Dactylis glomerata, Lp Lolium perenne sont récoltés en vallée sur alluvions récentes F : Les sols peuvent être moins acides et plus anthropisés que dans le cas précédent.

Cc Cynosurus cristatus est récolté sur des sols probablement moins acides, alluvions glaciaires Agl, éventuellement au contact des sédiments du Lias.



Annexe 3. Photographies de l'essai de Massat

Photographie 1. Bloc 3 Parcelles 0 (témoin) et 2 (CaO +NPK). Photographie P.Castillon avril 2006.



Photographie 2. Bloc 1 Parcelles 0 (témoin) et 2 (CaO +NPK), juin 2006.

Annexe 4
Abondance des espèces à Massat, juin 2005.
(Ab % abondance observée, Abc % abondance corrigée)

| Traitement 6 CaCO3 | Bloc I | | Bloc II | | Bloc III | | | |
|---|---------------|--------------|--------------------------------|--------------|-----------------|--------------------------------|------|-------|
| | Ab % | Abc % | Ab % | Abc % | Ab % | Abc % | | |
| <i>Brachypodium pinnatum</i> | 22.4 | 27.8 | <i>Brachypodium pinnatum</i> | 20.6 | 25.0 | <i>Brachypodium pinnatum</i> | 22.0 | 28.1 |
| <i>Carex caryophyllea</i> | 12.6 | 15.7 | <i>Carex caryophyllea</i> | 11.0 | 13.4 | <i>Carex caryophyllea</i> | 10.6 | 13.6 |
| <i>Festuca rubra</i> | 9.8 | 12.2 | <i>Eperviere pillosella</i> | 10.3 | 12.5 | <i>Eperviere pillosella</i> | 8.1 | 10.4 |
| <i>Eperviere pillosella</i> | 9.1 | 11.3 | <i>Festuca rubra</i> | 6.6 | 8.0 | <i>Festuca rubra</i> | 8.1 | 10.4 |
| <i>Potentilla reptans</i> | 4.9 | 6.1 | <i>Cytisus scoparius</i> | 6.6 | 8.0 | <i>Lotus corniculatus</i> | 4.9 | 6.3 |
| <i>Erica sp</i> | 4.2 | 5.2 | <i>Prunella vulgaris</i> | 4.4 | 5.4 | <i>Helictotrichon sulcatum</i> | 4.1 | 5.2 |
| <i>Molinia caerulea</i> | 4.2 | 5.2 | <i>Erica sp</i> | 4.4 | 5.4 | <i>Mousse (Bryophytes)</i> | 4.1 | 5.2 |
| <i>Helictotrichon sulcatum</i> | 3.5 | 4.3 | <i>Molinia caerulea</i> | 4.4 | 5.4 | <i>Prunella vulgaris</i> | 3.3 | 4.2 |
| <i>Prunella vulgaris</i> | 3.5 | 4.3 | <i>Sucissa pratensis</i> | 4.4 | 5.4 | <i>Cuscuta europaea</i> | 3.3 | 4.2 |
| <i>Sieglingia decumbens</i> | 3.5 | 4.3 | <i>Viola sp.</i> | 3.7 | 4.5 | <i>Sieglingia decumbens</i> | 3.3 | 4.2 |
| <i>Gallium verum</i> | 2.8 | 3.5 | <i>Agrostis capillaris</i> | 2.9 | 3.6 | <i>Pimpinelle saxifraga</i> | 3.3 | 4.2 |
| | | | <i>Helictotrichon sulcatum</i> | 2.9 | 3.6 | <i>Polygala vulgaris</i> | 3.3 | 4.2 |
| | 80.4 | 100.0 | | 82.4 | 99.9 | | 78.0 | 100.1 |
| Traitement 3 CaCO3 NPK | | | | | | | | |
| <i>Picris hieracioides</i> | 31.5 | 37.7 | <i>Molinia caerulea</i> | 23.5 | 27.8 | <i>Carex caryophyllea</i> | 24.2 | 29.5 |
| <i>Carex caryophyllea</i> | 20.5 | 24.6 | <i>Carex caryophyllea</i> | 17.6 | 20.8 | <i>Agrostis capillaris</i> | 12.6 | 15.4 |
| <i>Pteridium aquilinum</i> | 8.2 | 9.8 | <i>Potentilla reptans</i> | 8.2 | 9.7 | <i>Achillea millefolium</i> | 11.6 | 14.1 |
| <i>Pimpinella saxifraga</i> | 6.8 | 8.2 | <i>Sucissa pratensis</i> | 8.2 | 9.7 | <i>Brachypodium pinnatum</i> | 11.6 | 14.1 |
| <i>Quercus pedunculata</i> | 6.8 | 8.2 | <i>Brachypodium pinnatum</i> | 7.1 | 8.3 | <i>Molinia caerulea</i> | 5.3 | 6.4 |
| <i>Agrostis capillaris</i> | 5.5 | 6.6 | <i>Centaurea nigra</i> | 7.1 | 8.3 | <i>Plantago lanceolata</i> | 5.3 | 6.4 |
| <i>Achillea millefolium</i> | 4.1 | 4.9 | <i>Lotus corniculatus</i> | 7.1 | 8.3 | <i>Eperviere pillosella</i> | 4.2 | 5.1 |
| | | | <i>Pimpinella saxifraga</i> | 5.9 | 6.9 | <i>Lotus corniculatus</i> | 4.2 | 5.1 |
| | 83.6 | 100.0 | | 84.7 | 100.0 | <i>Pteridium aquilinum</i> | 3.2 | 3.8 |
| | | | | | | | 82.1 | 100.0 |

Annexe 4 (suite)
Abondance des espèces (Massat, juin 2005)
(Ab % abondance observée, Abc % abondance corrigée)

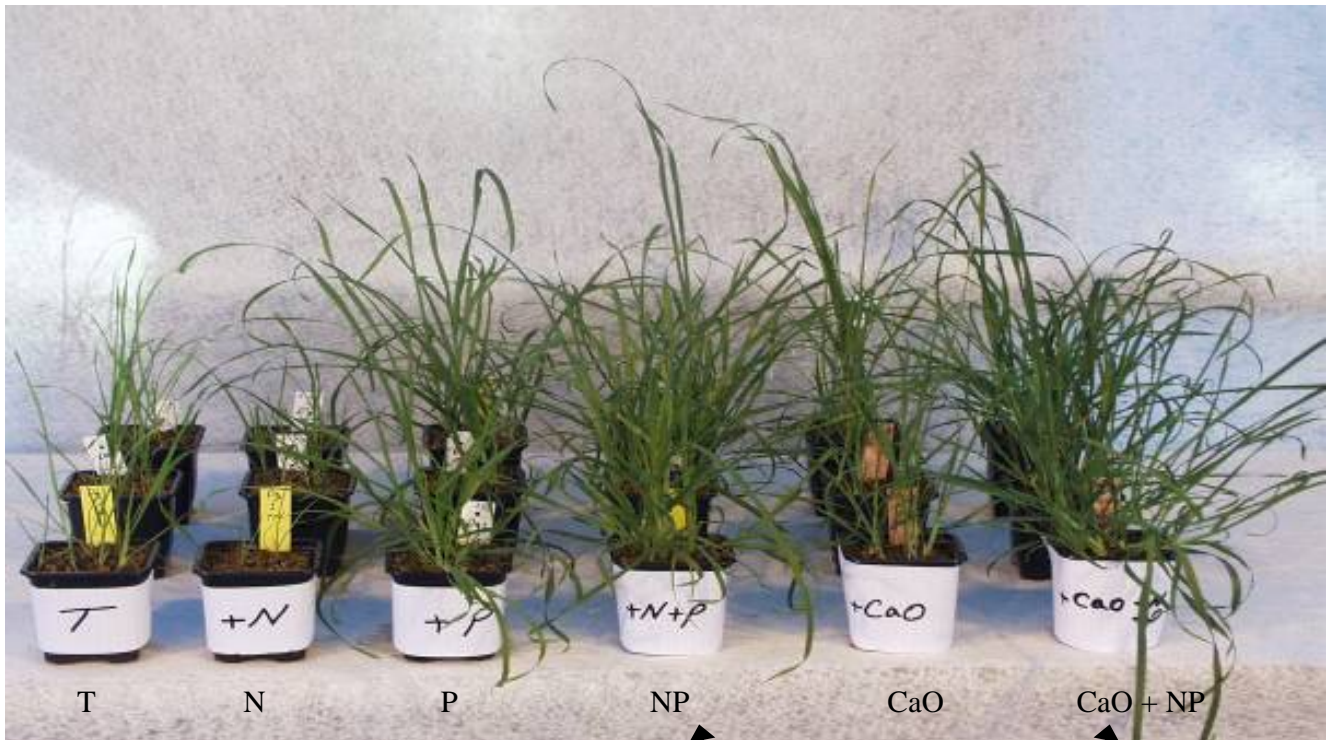
| Traitement 1 NPK | Bloc I | | Bloc II | | Bloc III | | | |
|--------------------------------|--------|-------|------------------------------|-------|----------|--------------------------------|------|-------|
| | Ab % | Abc % | Ab % | Abc % | Ab % | Abc % | | |
| <i>Agrostis capillaris</i> | 35.3 | 43.9 | <i>Carex caryophyllea</i> | 23.1 | 28.4 | <i>Pteridium aquilinum</i> | 18.2 | 22.6 |
| <i>Carex caryophyllea</i> | 15.7 | 19.5 | <i>Molinia caerulea</i> | 21.4 | 26.3 | <i>Holcus lanatus</i> | 16.9 | 21.0 |
| <i>Quercus pedunculata</i> | 15.7 | 19.5 | <i>Brachypodium pinnatum</i> | 13.7 | 16.8 | <i>Carex caryophyllea</i> | 15.6 | 19.4 |
| <i>Molinia caerulea</i> | 9.8 | 12.2 | <i>Agrostis capillaris</i> | 10.3 | 12.6 | <i>Pimpinella saxifraga</i> | 10.4 | 12.9 |
| <i>Pteridium aquilinum</i> | 3.9 | 4.9 | <i>Prunella vulgaris</i> | 4.3 | 5.3 | <i>Molinia caerulea</i> | 7.8 | 9.7 |
| | | | <i>Quercus pedunculata</i> | 4.3 | 5.3 | <i>Potentilla reptans</i> | 6.5 | 8.1 |
| | | | <i>Sucissa pratensis</i> | 4.3 | 5.3 | <i>Brachypodium pinnatum</i> | 5.2 | 6.5 |
| | 80.4 | 100.0 | | 81.2 | 100.0 | | 80.5 | 100.0 |
| Traitement 0 (témoin) | | | | | | | | |
| <i>Festuca rubra</i> | 14.3 | 17.3 | <i>Brachypodium pinnatum</i> | 15.9 | 19.6 | <i>Brachypodium pinnatum</i> | 16.8 | 20.6 |
| <i>Carex caryophyllea</i> | 13.6 | 16.5 | <i>Festuca rubra</i> | 10.6 | 13.1 | <i>Eperviere pillosella</i> | 16.8 | 20.6 |
| <i>Eperviere pillosella</i> | 9.1 | 11.0 | <i>Mousse (Bryophytes)</i> | 10.6 | 13.1 | <i>Helictotrichon sulcatum</i> | 9.9 | 12.1 |
| <i>Prunella vulgaris</i> | 8.4 | 10.2 | <i>Avenula marginata</i> | 9.1 | 11.2 | <i>Sieglingia decumbens</i> | 6.9 | 8.4 |
| <i>Erica sp</i> | 8.4 | 10.2 | <i>Carex caryophyllea</i> | 9.1 | 11.2 | <i>Mousse (Bryophytes)</i> | 6.9 | 8.4 |
| <i>Potentilla reptans</i> | 7.8 | 9.4 | <i>Sieglingia decumbens</i> | 8.3 | 10.3 | <i>Erica sp</i> | 6.1 | 7.5 |
| <i>Molinia caerulea</i> | 7.1 | 8.7 | <i>Molinia caerulea</i> | 8.3 | 10.3 | <i>Cytisus scoparius</i> | 5.3 | 6.5 |
| <i>Sieglingia decumbens</i> | 6.5 | 7.9 | <i>Agrostis capillaris</i> | 4.5 | 5.6 | <i>Prunella vulgaris</i> | 4.6 | 5.6 |
| <i>Helictotrichon sulcatum</i> | 3.9 | 4.7 | <i>Eperviere pillosella</i> | 4.5 | 5.6 | <i>Carex caryophyllea</i> | 4.6 | 5.6 |
| <i>Agrostis capillaris</i> | 3.2 | 3.9 | | | | <i>Molinia coerulea</i> | 3.8 | 4.7 |
| | 82.5 | 100.0 | | 81.1 | 100.0 | | 81.7 | 100.0 |

Annexe 5 (suite)
Tableau des corrélations entre traits (traitement témoin)

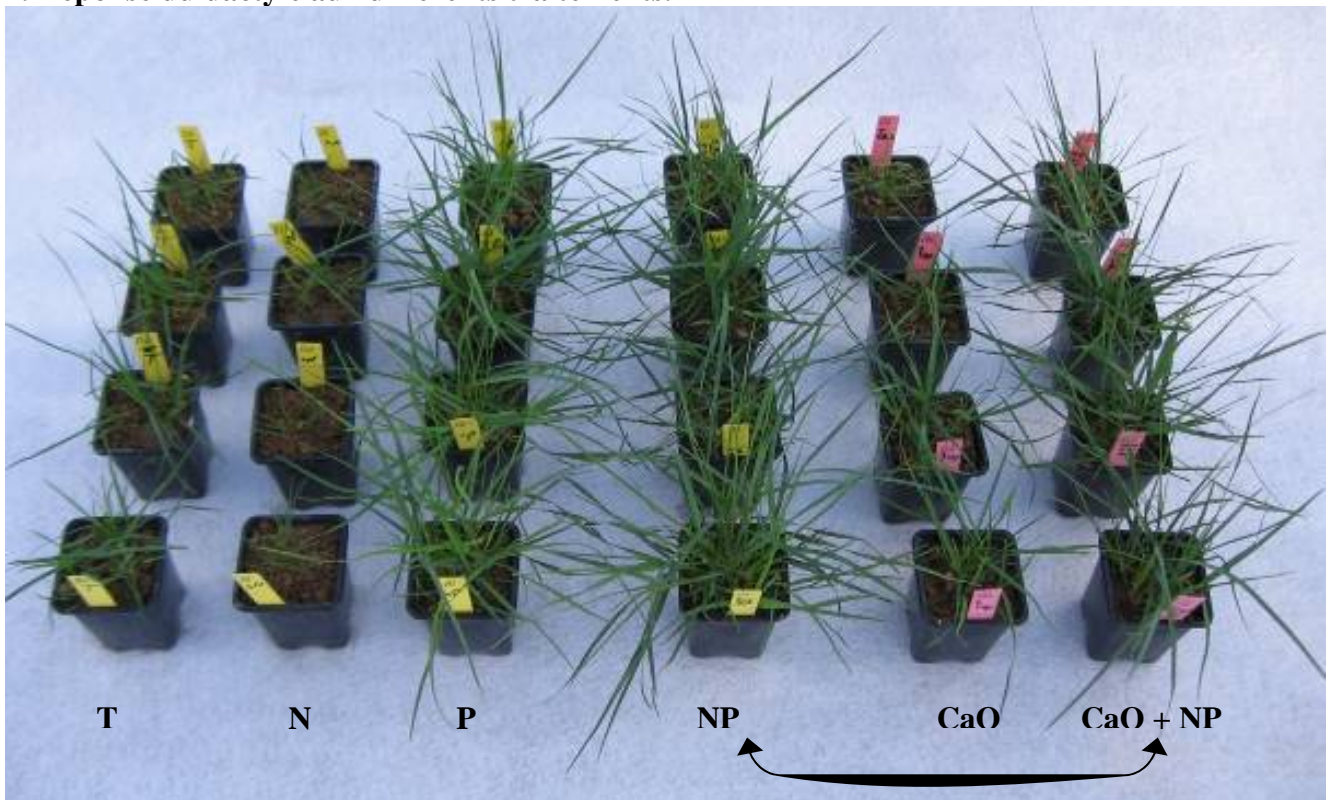
3. Signification des différences de teneur en azote entre espèces (traitements + N et -N)

| espèce | LogN | Groupes homogènes | | | | | espèce | Log N | Groupes homogènes | | | | |
|--------|------|-------------------|----|----|----|---|--------------|-------|-------------------|----|----|---|--|
| Lpc +N | 1.86 | A | | | | | <i>Sd</i> -N | 1.54 | J | | | | |
| Lp +N | 1.84 | AB | | | | | <i>Bm</i> -N | 1.42 | | K | | | |
| HI +N | 1.83 | AB | | | | | <i>Fe</i> -N | 1.41 | | KL | | | |
| Ae +N | 1.81 | AB | C | | | | Mc -N | 1.4 | | KL | | | |
| Fr +N | 1.81 | AB | C | | | | HI -N | 1.39 | | KL | | | |
| Ao +N | 1.81 | AB | CD | | | | Bs -N | 1.37 | | KL | M | | |
| Bs +N | 1.79 | B | CD | E | | | Fr -N | 1.37 | | KL | M | | |
| Mc +N | 1.77 | | CD | EF | | | Ao -N | 1.36 | | L | M | | |
| Dg +N | 1.76 | | D | EF | G | | Bp -N | 1.33 | | | MN | | |
| Ac +N | 1.75 | | | EF | G | | Ae -N | 1.31 | | | N | | |
| Sd +N | 1.73 | | | F | G | | Ac -N | 1.31 | | | N | | |
| Bm +N | 1.71 | | | | GH | | Dg -N | 1.26 | | | | O | |
| Fe +N | 1.69 | | | | H | | Lpc -N | 1.25 | | | | O | |
| Bp +N | 1.59 | | | | | I | Lp -N | 1.24 | | | | O | |

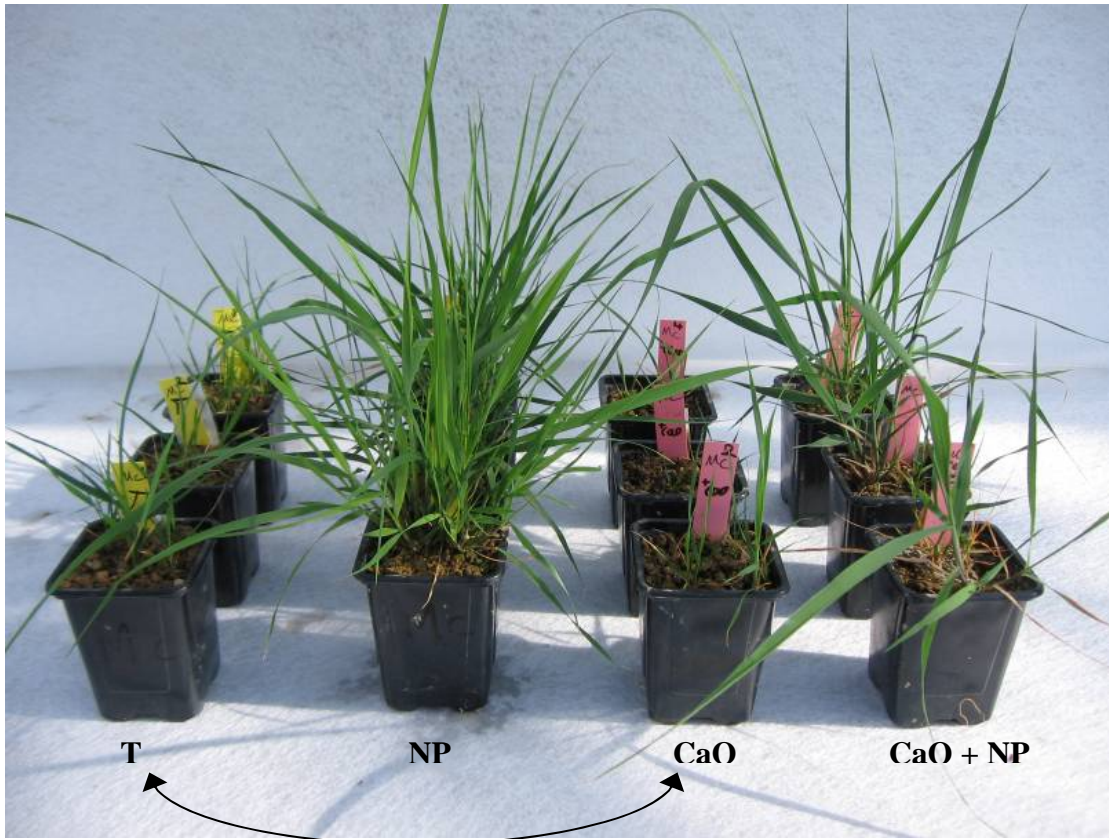
Annexe 6 : Vue des parties aériennes de quelques espèces dans l'essai en pot.



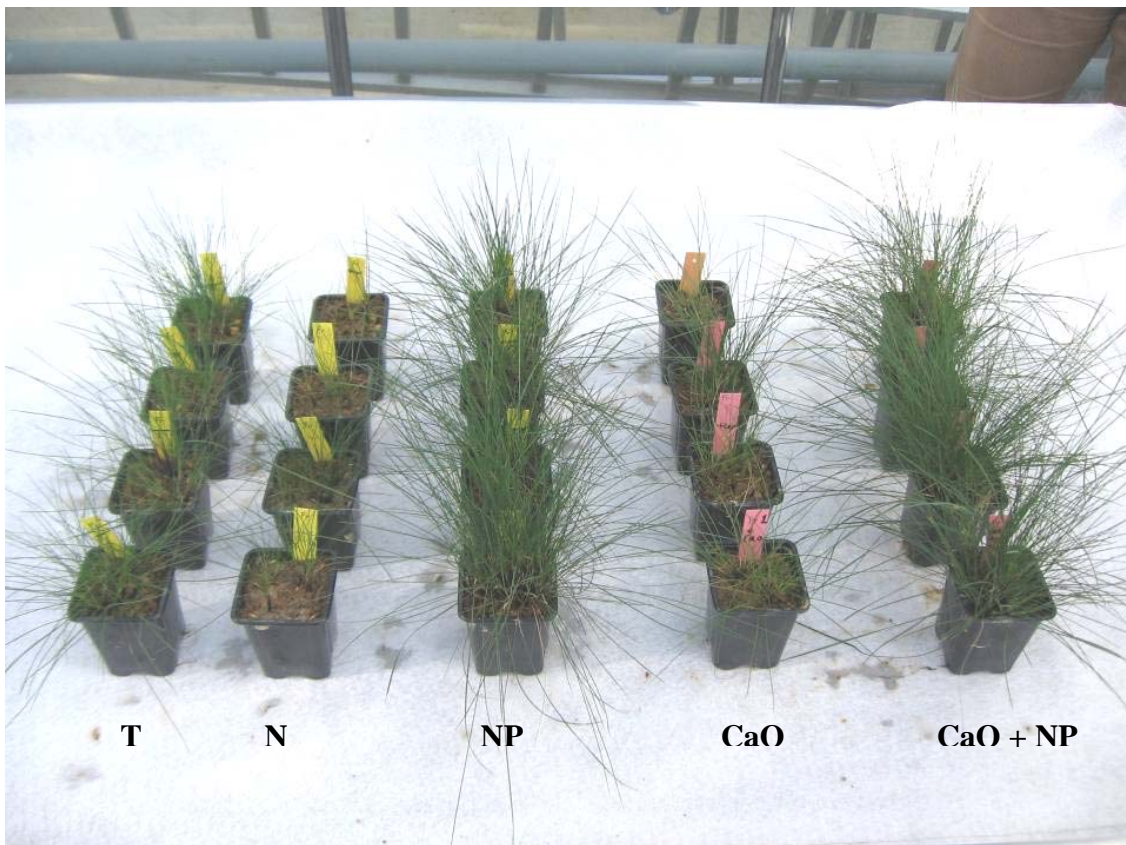
1. Réponse du dactyle aux différents traitements.



2. Réponse de la danthonie aux différents traitements.



3. Réponse de la molini aux différents traitements.



4. Réponse de la fetque aux différents traitements.

Annexe 7

Analyse de la solution du sol sur deux séries d'échantillons. (Laboratoire du CIRAD – AMIS) Montpellier). Codes : T0 = témoin, T1 = apport d'engrais NPK, T4 modalité chaulée CaCO₃ + CaSO₄ + NPK. Horizons A profondeur 0 – 5 cm, B profondeur 5- 10 cm.

Echantillon 2004

| Solution de sol extrait 1/1 | | T0 A | T0 B | T1 A | T1 B | T4 A | T4 B |
|------------------------------------|--------|------|------|------|------|------|------|
| pH | | 5.25 | 4.31 | 6.13 | 5.90 | 6.90 | 6.09 |
| CE à 25°C | μS/cm | 250 | 136 | 202 | 138 | 263 | 134. |
| Ca | μmol/l | 766 | 268 | 478 | 200 | 935 | 364 |
| Mg | μmol/l | 668 | 174. | 259 | 101 | 323 | 89.0 |
| K | μmol/l | 597 | 227 | 565 | 306 | 377 | 186 |
| Na | μmol/l | 411 | 167 | 265 | 144 | 210 | 151 |
| N-NH ₄ | μmol/l | 866 | 447 | 849 | 175 | 604 | 141 |
| Al | μmol/l | 208 | 55.1 | 211 | 57.5 | 240 | 58.8 |
| Fe | μmol/l | 37.2 | 15.3 | 75.1 | 11.8 | 118 | 18.8 |
| Mn | μmol/l | 84.6 | 18.4 | 72.7 | 21.8 | 37.9 | 13.6 |
| Cl | μmol/l | 913 | 665 | 661 | 276 | 467 | 234 |
| S-SO ₄ | μmol/l | 1233 | 329 | 1236 | 483 | 1093 | 604 |
| N-NO ₃ | μmol/l | 50.4 | 48.0 | 112 | 72.1 | 447 | 96.4 |
| P-PO ₄ | μmol/l | 22.6 | 7.87 | 41.3 | 8.90 | 38.7 | 8.13 |
| HCO ₃ * | μmol/l | 1800 | 500 | 900 | 300 | 1400 | 400 |
| Si | μmol/l | 191 | 378 | 224 | 435 | 230 | 499 |

* estimé par manque de solution

Echantillon 2005

| Solution de sol extrait 1/1 | | T0 A | T0 B | T1 A | T1 B | T4 A | T4 B |
|------------------------------------|--------|------|------|-------|------|------|--------|
| pH | | 4.69 | 4.73 | 4.49 | 4.54 | 4.86 | 4.71 |
| CE à 25°C | μS/cm | 137 | 64.8 | 145 | 102 | 210 | 112 |
| Ca | μmol/l | 121 | 64.3 | 76.0 | 54.5 | 276 | 130 |
| Mg | μmol/l | 107 | 55.2 | 32.8 | 39.4 | 98.8 | 30.1 |
| K | μmol/l | 175 | 65.0 | 210 | 111 | 239 | 92.6 |
| Na | μmol/l | 150 | 108 | 149 | 101 | 166 | 132 |
| N-NH ₄ | μmol/l | 275 | 126 | 394 | 221 | 381 | 194 |
| Al | μmol/l | 40.6 | 10.3 | 25.7 | 15.4 | 23.5 | 10.5 |
| Fe | μmol/l | 22.1 | 2.65 | 9.54 | 5.28 | 8.76 | 1.83 |
| Mn | μmol/l | 5.28 | 0.82 | 5.26 | 1.44 | 7.79 | 1.84 |
| Cl | μmol/l | 561 | 245 | 431 | 194 | 527 | 263.3 |
| S-SO ₄ | μmol/l | 345 | 114 | 474 | 371 | 591 | 372.19 |
| N-NO ₃ | μmol/l | 7.14 | 9.29 | 0.00 | 65.0 | 412 | 166.43 |
| P-PO ₄ | μmol/l | 3.10 | 2.42 | 4.68 | 1.61 | 5.19 | 1.39 |
| HCO ₃ | μmol/l | 161 | 86.1 | 41.0 | 56.9 | 91.4 | 47.30 |
| Si | μmol/l | 153 | 79.6 | 146.4 | 78.3 | 138 | 76.71 |

**Annexe 8 : Teneur en éléments minéraux des parties aériennes
(Essai en pot, moyennes de 4 répétitions)**

| | Al mg/kg | | | Mn mg/kg | | |
|---------|-------------|------|--------|-------------|-----|--------|
| | T | NP | CaO NP | T | NP | CaO NP |
| Dg | -- | 1048 | 1204 | -- | 256 | 256 |
| Lp | 188 | 613 | 674 | 130 | 313 | 202 |
| Hl | 681 | 1492 | 2377 | 466 | 739 | 1228 |
| Fr | 790 | 782 | 1933 | 459 | 588 | 370 |
| Mc | 310 | 720 | 1830 | 155 | 841 | 589 |
| Sd | 232 | 684 | 1207 | 163 | 539 | 428 |
| Hs | 414 | 325 | 413 | 517 | 721 | 655 |
| moyenne | 436 | 809 | 1377 | 315 | 571 | 533 |

| | N g/100g | | | P g/kg | | |
|---------|-------------|------|--------|--------|-----|--------|
| | T | NP | CaO NP | T | NP | CaO NP |
| Dg | -- | 3.87 | 3.48 | -- | 1.0 | 1.3 |
| Lp | 4.02 | 4.35 | 3.55 | 0.3 | 1.1 | 1.4 |
| Hl | 4.02 | 3.97 | 3.30 | 0.3 | 1.6 | 1.3 |
| Fr | 2.11 | 2.99 | 2.27 | 0.7 | 1.4 | 1.1 |
| Mc | 2.99 | 2.26 | 2.20 | 0.3 | 1.1 | 0.8 |
| Sd | 2.70 | 2.77 | 2.67 | 0.5 | 1.5 | 1.1 |
| Hs | 2.19 | 2.61 | 2.68 | 0.5 | 0.9 | 1.3 |
| moyenne | 3.0 | 3.3 | 2.9 | 0.4 | 1.2 | 1.2 |

| | N/P sans unité | | | Ca g/kg | | |
|---------|----------------------|----|--------|---------|------|--------|
| | T | NP | CaO NP | T | NP | CaO NP |
| Dg | -- | 39 | 27 | -- | 1.79 | 6.78 |
| Lp | 134 | 40 | 25 | 1.19 | 2.75 | 9.34 |
| Hl | 134 | 25 | 25 | 1.22 | 2.76 | 6.13 |
| Fr | 30 | 21 | 21 | 3.06 | 4.09 | 8.05 |
| Mc | 100 | 21 | 28 | 0.51 | 2.91 | 5.77 |
| Sd | 54 | 18 | 24 | 0.87 | 2.39 | 5.78 |
| Hs | 44 | 29 | 21 | 1.24 | 2.91 | 7.14 |
| moyenne | 83 | 27 | 24 | 1 | 3 | 7 |

| | K g/kg | | | Mg g/kg | | |
|---------|--------|----|--------|---------|------|--------|
| | T | NP | CaO NP | T | NP | CaO NP |
| Dg | -- | 32 | 44 | -- | 1.3 | 2.15 |
| Lp | 8 | 34 | 44 | 0.42 | 1.15 | 2.02 |
| Hl | 11 | 43 | 42 | 0.8 | 2.2 | 1.93 |
| Fr | 16 | 19 | 21 | 1.05 | 1.4 | 1.26 |
| Mc | 5 | 17 | 18 | 0.55 | 1.79 | 1.34 |
| Sd | 9 | 21 | 22 | 0.68 | 1.93 | 1.53 |
| Hs | 12 | 17 | 22 | 0.76 | 1.45 | 1.19 |
| moyenne | 10 | 26 | 30 | 1 | 2 | 2 |

| | Cu mg/kg | | | Zn mg/kg | | |
|---------|----------|------|--------|----------|------|--------|
| | T | NP | CaO NP | T | NP | CaO NP |
| Dg | -- | 7.6 | 9.0 | -- | 35.6 | 37.9 |
| Lp | 2.9 | 7.2 | 8.6 | 13.9 | 35.5 | 42.5 |
| Hl | 4.4 | 8.2 | 8.4 | 21.3 | 48.5 | 44.7 |
| Fr | 5.2 | 7.0 | 6.9 | 30.0 | 53.1 | 37.5 |
| Mc | 3.2 | 4.7 | 5.3 | 11.1 | 51.3 | 44.0 |
| Sd | 4.7 | 10.4 | 8.8 | 16.8 | 55.7 | 45.6 |
| Hs | 3.1 | 4.0 | 4.6 | 13.6 | 21.9 | 29.2 |
| moyenne | 4 | 7 | 7 | 18 | 43 | 40 |