



ÉCOLE DOCTORALE
PRES I Bourgogne | Franche-Comté
Environnements - Santé

THESE

Présentée

Devant l'UNIVERSITE DE BOURGOGNE

Pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Bourgogne

En Sciences de la Terre

Discipline : Agroécologie – Ecologie microbienne

Par Pascal LIENHARD

Le 27 Septembre 2013

Evaluation agroécologique de systèmes de culture en zone tropicale humide Cas de la mise en valeur agricole d'une savane herbacée acide (Plaine des Jarres, Laos)

Devant le Jury :

M. Eric Blanchart	Directeur de recherche, IRD, Madagascar	Rapporteur
M. René Bally	Directeur de recherche, CNRS, Lyon	Rapporteur
M. Bernard Nicolardot	Professeur, Agrosup, Dijon	Examineur
M. Jean-Christophe Lata	Maitre de conférence, UPMC, Paris	Examineur
M. François Laurent	Directeur de service agronomie environnement, Arvalis, Paris	Examineur
M. Lionel Ranjard	Directeur de recherche, INRA, Dijon	Directeur de thèse
M. Richard Joffre	Directeur de recherche, CNRS, Montpellier	Co-directeur de thèse
M. Pierre-Alain Maron	Chargé de recherche, INRA, Dijon	Co-encadrant

Laboratoire d'accueil :

UMR 1347 Agroécologie – 17, rue Sully, BP 86510, 21065 Dijon Cédex, France

A Thomas, Théo et Thibault

*«They are more living creatures in a shovel full of rich soil than human beings on the planet
– Yet more is known about the dark side of the moon than about soil »*
The secrets of soil. Museum of Natural History, Washington D.C.

REMERCIEMENTS

Une thèse est un long exercice d'accouchement (avec similairement de longues périodes de contractions !), qui a la particularité d'être à la fois solitaire et collectif. Ce travail a abouti grâce aux soutiens et aux compétences de nombreuses personnes (et institutions) que je tiens à remercier ici chaleureusement.

Je tiens tout d'abord à remercier Lionel Ranjard, Pierre-Alain Maron et Philippe Lemanceau d'avoir accepté, sans à priori et avec enthousiasme, d'accueillir et d'encadrer au sein de l'UMR MSE (devenue aujourd'hui UMR Agroécologie) cette sollicitation venue de loin. J'ai autant apprécié le côté professionnel qu'amical de nos échanges et de vos conseils. La bonne humeur qui règne au sein de l'UMR et de la plateforme Génosol a rendu moins fastidieux le douloureux travail qu'a été pour moi la traduction des résultats en articles scientifiques.

Je remercie également Richard Joffre, co-encadrant de cette thèse : même si mes séjours au CNRS de Montpellier ont été moins fréquents que ceux sur Dijon, j'ai apprécié ta disponibilité lors de mes passages sur Montpellier et nos échanges lors de ta venue au Laos (en espérant que la prochaine soit moins tumultueuse !).

Merci à André Chabanne et Laurent Thuriès, d'avoir accepté de participer aux rares mais riches comités de pilotage de cette thèse. André, tu as poussé pour que le site de Ban Poa voit le jour : tu as droit à un double merci !

Comme il n'y a pas de recherche sans financements, je tiens également à remercier le FFEM et l'AFD, pour avoir financé ce dispositif (au travers des projets PRONAE et PROSA), ainsi qu'une grande partie des analyses faites dans le cadre de ce travail (au travers de l'initiative PAMPA). Je remercie plus particulièrement Denis Loyer, de l'AFD Paris, et Olivier Gilard, de l'AFD Vientiane, pour leur soutien et l'aide apportée pour tenter de pérenniser ces dispositifs au-delà du terme de ces projets.

De nombreuses personnes au CIRAD m'ont permis de m'engager et de mener à bien ce projet de thèse. Je tiens notamment à remercier Bernadette Vincent, qui m'a aidé à bâtir ce Plan Professionnel Partagé (PPP), ainsi que Robert Habib, Arnaud Vincent, et Francis Forest, qui ont appuyé favorablement ce plan de formation. Christine : merci pour ta gentillesse, tes appuis multiples et ton dévouement constant. Ce dispositif expérimental ne serait pas ce qu'il est sans l'expertise et les conseils amicaux de Lucien Séguy et Florent Tivet. Merci à tous les deux pour votre fidélité de longue date. Un grand merci également à Jean Claude Legoupil, qui a milité, avec constance et bonne humeur, pour le développement du site de Ban Poa et le maintien d'activités de recherche sur ce site. Merci, enfin, à Cécile Fovet Rabot pour ses relectures patientes et ses conseils avisés.

Ce travail n'aurait sans doute pas abouti sans le soutien et l'enthousiasme de nombreux partenaires locaux. Je tiens à remercier en premier lieu les partenaires de la recherche agronomique Lao, et notamment MM. Anonh Khamhoung (DALaM), Khamkéo Panyasiri (NAFRI), et Thongchanh Bounthala (NAFRI) pour l'appui financier, humain et logistique à ces travaux. Merci également d'avoir acceptée ma faible disponibilité et mes absences fréquentes durant ces quatre années.

Je remercie également la direction des services agricoles de la province de Xieng Khouang, et notamment MM Khamsy Chantavong et Phimpa Nilavong qui, malgré des moyens limités, ont toujours appuyé et facilité ces essais.

Je tiens également à remercier les nombreuses mains qui ont participé aux mises en place, suivis, prélèvements et tamisages multiples avec en premières lignes Bounma, Seng, Ienlang... merci pour vos efforts et votre éternelle bonne humeur durant toutes ces années. Merci également à tous les étudiants qui ont travaillé et transpiré, dans des conditions souvent spartiates, sur le site de Ban Poa : Ni, La, Vone, Hom, Thot, Thongmai, Phoutsadi, Petsamone, Khamla, Choy, Ouy, Yingkeu et tous les autres...

Comment ne pas remercier les agriculteurs de Ban Poa (et au-delà, tous les agriculteurs avec lesquels j'ai pu travailler tout au long de ces années dans les districts de Pek, Kham et Nonghet), qui ont accepté (et continuent encore aujourd'hui) de mettre gracieusement à disposition ce terrain de 16 ha ? Au-delà de votre confiance, vos sourires et votre gentillesse resteront certainement parmi mes meilleurs souvenirs du Laos.

Je tiens à remercier une nouvelle fois toute l'équipe de la plateforme Génosol et de l'UMR Agroécologie : merci à Vivi, Tiff et Mélanie de m'avoir initié aux plaisirs de la biomol (et surtout d'être si souvent passé derrière moi !), et à Sam et Nikos d'avoir tenté de m'inculquer les joies de R et des analyses multivariées (...). Merci également à Seb pour ses explications sur les principes et subtilités du pyroséquençage. Merci à PAM pour son introduction au priming effect et à Céline pour son aide efficace lors des échantillonnages de gaz. Je ne voudrais pas oublier les Fafa, Didine, Pierrot, Fabiolita, Dupond et Dupont, avec qui j'ai partagé de très bons moments.

Je remercie également Bruno Buatois et Richard, du CNRS, pour leurs explications théoriques et pratiques sur la NIRS et les modalités de traitement de ces données spectrales. Merci aussi à Abou pour toutes ces heures consenties en compagnie du broyeur Cyclotec.

Un grand merci également à Juca, de l'UEPG, pour ses éclairages sur les matières organiques du sol et ses conseils pratiques sur les techniques de fractionnement des agrégats du sol (*muito obrigado* !).

J'ai eu la chance de travailler tout au long de ces années passées au Laos avec des collègues dont beaucoup sont devenus des proches voir des amis : merci à Steph, Johnny, Florent, Patrick, Hoa, Damien, Fredo d'avoir contribué à une dynamique et un cadre de travail qui me paraissent, avec le recul, uniques.

Je veux également remercier Pascale, Marie et Guitou, pour m'avoir hébergé, écouté et chouchouté lors de mes séjours à Montpellier.

Il me reste à remercier ma tribu, qui m'a accompagné et épaulé durant ces quatre années et bien avant cela : ma mère, qui aurait été certainement très fière, mon père et Christiane, qui ont tant fait pour faciliter nos séjours en France, Caro et Manu, toujours là dans les moments importants. Hang, que te dire ? Tu as tenu vaillamment la barque familiale durant toutes ces années et les mots sont peu de choses pour t'exprimer ma reconnaissance et mon affection...

Thomas, Théo et Thibault ont souffert d'un père souvent absent, ou peu disponible lorsque présent. Merci à vous trois, mes lascars, pour votre amour sans failles et votre sens aigu des priorités !

RESUME

Dans les régions tropicales humides, concilier intensification agricole et protection des ressources naturelles est un défi majeur et difficile à relever. Dans les savanes acides du nord-est laotien, des systèmes de culture de semis direct sur couverture végétale (SCV), basés sur les trois principes du non-labour, d'une couverture permanente du sol, et sur la pratique de rotations culturales diversifiées, sont proposés comme alternative technique à l'intensification agricole conventionnelle basée sur le labour. Si ces systèmes ont connu une diffusion importante et rapide dans les grandes agricultures mécanisées, leur diffusion reste néanmoins à ce jour limitée en contexte de petite agriculture familiale, avec de fait peu d'études relatives à leurs impacts agronomiques, économiques et écologiques. Par ailleurs, malgré le rôle essentiel des microorganismes telluriques dans le fonctionnement biologique et les services écosystémiques fournis par les sols, l'effet de ces systèmes sur les communautés microbiennes des sols reste encore largement méconnu. Dans ce contexte, cette thèse a pour objectif d'évaluer, à l'échelle de la parcelle agricole et à partir d'expérimentations menées au champ et en conditions contrôlées en laboratoire, l'impact de systèmes SCV vs. labour sur les propriétés des sols, leur fonctionnement biologique et les services écosystémiques qu'ils fournissent.

Dans un premier chapitre, nous proposons une évaluation agronomique et économique de ces systèmes. Après trois années de culture, les résultats techniques sont favorables aux systèmes SCV avec des rendements grain, des marges brutes à l'hectare, des productivités du travail et des rendements paille similaires à supérieurs à ceux du labour. Les systèmes SCV nécessitent cependant un investissement financier initial et une maîtrise technique plus importants par rapport au système conventionnel basé sur le labour, ce qui les rend économiquement plus risqués à court terme.

Dans un deuxième chapitre, nous analysons l'impact de ces systèmes agricoles sur les propriétés physico-chimiques et le fonctionnement microbiologique des sols par le biais d'outils issus de l'écologie moléculaire (extraction et caractérisation de l'ADN du sol) et de l'écologie fonctionnelle (mesure des activités microbiennes). Après deux ans de culture, nos résultats montrent que, contrairement au labour, les systèmes SCV permettent d'améliorer les propriétés physico-chimiques des sols (stabilité des agrégats, teneurs en carbone et en azote, disponibilité en éléments minéraux) tout en maintenant l'abondance et la diversité des communautés microbiennes des sols (bactéries et champignons). En parallèle, l'incubation de sols et la mesure d'activité de minéralisation après ajout de résidus végétaux marqués au ^{13}C met en évidence un lien positif entre la minéralisation des résidus de culture et la diversité bactérienne sous le traitement labour. Elle montre par ailleurs un lien positif entre la minéralisation du carbone des sols, le *priming effect* (sur-minéralisation du carbone organique natif du sol suite à l'apport de substrats riches en énergie) et la diversité fongique sous le témoin (prairie naturelle). Les systèmes SCV se positionnent comme des situations écologiques intermédiaires entre labour et pâturage naturel, et représentent, de fait, un bon compromis entre le besoin d'intensifier la production agricole, et celui de préserver l'intégrité patrimoniale et fonctionnelle des sols.

Dans un troisième chapitre, la spectroscopie dans le proche infra rouge (NIRS) est évaluée comme indicateur potentiel synthétique de la qualité des sols. L'analyse en composante principale des spectres bruts montre une différenciation nette des terroirs et des modes d'usage. L'utilisation de la NIRS pour prédire les caractéristiques des sols se montre par ailleurs très satisfaisante pour la texture, et les teneurs en carbone et azote du sol, mais moyennement à peu satisfaisante pour les autres caractéristiques du sol. Son utilisation comme outil de pilotage de la qualité des sols dépend principalement de l'accessibilité aux bases de données spectrales et aux outils de traitement informatique de ces données.

Cette étude représente une des évaluations agroécologiques les plus complètes réalisées sur les SCV en contexte de petite agriculture familiale engagée dans un processus d'intensification agricole. Ce travail met en évidence un impact positif de ces systèmes sur la productivité, la rentabilité et la durabilité de la production agricole. Nos résultats montrent par ailleurs l'intérêt des indicateurs microbiens pour l'évaluation précoce de l'impact des modes d'usage sur les propriétés et le fonctionnement biologique des sols. Une telle évaluation constitue une condition nécessaire, mais pas suffisante, pour l'adoption et la diffusion de ces systèmes en milieu paysan. Des appuis institutionnels, techniques et financiers à long terme sont nécessaires pour qu'ils puissent devenir une alternative crédible à l'intensification actuelle basée sur le labour.

Mots clés : sol, systèmes de culture, évaluation agroécologique, semis direct sur couverture végétale, agriculture de conservation, écologie microbienne, savanes tropicales acides, Laos.

ABSTRACT

One of the greatest challenges in the humid tropics is to better meet the common wish for enhanced agricultural intensification and natural resources protection. In the acid savannah grassland of northeastern Laos, direct-seeded mulch-based cropping (DMC) systems, which are based on the three principles of soil minimal disturbance (no-till), soil permanent cover (mulch), and the practice of diversified crop rotations, are proposed as an alternative to the current tillage-based agricultural intensification trend. If these cropping systems have been widely and rapidly adopted in large-scale mechanized agriculture, their adoption remains yet limited in small-scale agricultural context, with therefore limited studies related to their agronomical, economical and ecological impacts. In addition, despite the central role of soil microorganisms in soil biological functioning and soil ecosystem services provision, the effect of DMC systems on soil microbial communities is still poorly known. In this context, the objective of this thesis is to evaluate, at plot scale and based on field data collection and experiments in the laboratory, the early effect of DMC vs. tillage-based systems on soil properties, soil biological functioning, and soil-related ecosystem services.

In a first part, we propose an agronomic and economic-based evaluation of the agricultural systems. After three cropping seasons, the results are favorable to DMC systems, with similar to higher grain yields, net income, labour productivity and stubble yields than under conventional tillage. However, DMC systems required higher initial investments (financial and knowledge) that make them more economically risky in the short term.

In a second part, we evaluate the effect of agricultural systems on soil properties and soil microbiological functioning, using tools coming from molecular ecology (extraction and characterization of soil DNA) and functional ecology (microbial activity measurements). Two years after the conversion of native grassland into agricultural land, we observed, contrary to tillage, an improvement of soil physical and chemical properties (aggregate stability, carbon and nitrogen contents, nutrient availability), and a maintenance of soil microbial communities abundance and diversity (bacterial and fungal communities) under DMC systems. At the same time, soil incubation and microbial respiratory activity measurements after soil amendment with ^{13}C residues, highlight a positive link between residue mineralization and bacterial richness and diversity in the tilled treatment. In addition, soil native organic carbon mineralization and priming effect (i.e., the increase in native soil organic carbon decomposition following energy-rich input to soil) were positively associated with fungal richness and diversity in the control treatment (natural grassland). DMC systems represented intermediate situations between tillage and pasture systems, hence a fair trade-off between the need for agricultural intensification and for soil biological patrimony and functioning preservation.

In a third chapter, we evaluate the potential of using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) as a synthetic indicator of soil quality. The principal component analysis of NIRS spectra shows a clear differentiation of territories and of land use managements within territories. The use of NIRS data to predict soil analytes was highly satisfactory for soil texture, carbon and nitrogen content, but moderately to poorly satisfactory for the other soil characteristics. The use of NIRS as a tool to evaluate soil quality depends mostly on the access to NIRS database and computing tools.

Altogether, this study represents one of the most complete agroecological evaluations of DMC systems in a context of small-scale agriculture engaged in a process of agricultural intensification. Our results show a positive impact of DMC systems on soil productivity, system profitability, and agricultural production sustainability. In addition, our results show the interest of using microbial indicators to evaluate the early effect of land use management on soil properties and biological functioning. This represents a necessary but not sufficient condition for their broad adoption and dissemination. Long-term institutional, technical and financial supports are required for these innovative systems to become a credible alternative to the current tillage-based agricultural intensification.

Key words. Soil, cropping systems, agroecological evaluation, no-till with cover crops, conservation agriculture, microbial ecology, tropical acid savannas, Laos

SOMMAIRE

Remerciements	3
Résumé	5
Abstract	6
Sommaire	7
Liste des abréviations	10
Liste des encarts	11
Liste des tableaux	11
Liste des figures	12
Liste des annexes	14
Introduction générale	15
1. Contexte de l'étude	17
2. Objectifs de l'étude et structure du document de thèse	21
Chapitre 1. Problématique et cas d'étude	23
1. L'intensification agricole en milieu tropical	27
1.1 Contexte et enjeux	27
1.2 Les enjeux spécifiques relatifs aux savanes acides	31
1.3 Intensification écologique de l'agriculture: entre concepts et réalités	33
1.4 Le cas de l'agriculture de conservation et des systèmes de culture sous couvert végétal (SCV)	33
2. L'évaluation de systèmes agricoles	38
2.1 Objectifs et indicateurs	38
2.2 Communautés microbiennes du sol : importance, approches et outils analytiques	46
2.3 La spectroscopie de réflectance dans le proche infrarouge (NIRS) comme outil d'évaluation de pratiques agricoles	49
3. Cas d'étude : la plaine des Jarres au Laos	52
3.1 Principales caractéristiques et dynamiques agraires	52
3.2 Démarche et dispositif expérimental	57
3.3 Indicateurs et méthodes retenus pour l'évaluation des systèmes agricoles	60
Chapitre 2. Evaluation agro-économique de systèmes SCV vs. labour dans un contexte de savane herbacée acide au Laos	63
Abstract	67
1. Introduction	68
2. Material and methods	69
2.1 Experimental site and agricultural systems	69
2.2 Soil productivity	72
2.3 Cropping system profitability	72
2.4 Statistics	73
3. Results	73
3.1 Effects of agricultural systems on soil productivity	73
3.2 Effects of agricultural systems on economic return	75
4. Discussion	78
4.1 Conservation versus tillage-based agricultural systems	78
4.2. Facilitating the emergence of a sustainable CA-based smallholder agriculture in the savannah grasslands of Laos	81
5. Conclusion	85

Acknowledgements	85
Chapitre 3. Evaluation environnementale de systèmes SCV vs. labour : effet sur les communautés microbiennes et le fonctionnement biologique des sols	87
3.1. Effet sur l'abondance et la diversité des communautés microbiennes des sols	84
Abstract	91
1. Introduction	92
2. Material and methods	95
2.1 Experimental site	95
2.2 Estimations of stubble restitutions	95
2.3 Soil sampling	95
2.4 Soil physical and chemical analysis	96
2.5 Soil molecular microbial abundance analysis	96
2.6 Soil bacterial community genetic structure analysis	97
2.7 Statistics	97
3. Results and discussion	98
3.1 Early effect on top soil physicochemical characteristics	98
3.2 Early effect on soil microbial abundance	100
3.3 Early effect on soil bacterial genetic structure	103
4. Conclusion	105
Acknowledgements	105
3.2. Effet sur la diversité taxonomique bactérienne et fongique	106
Abstract	107
1. Introduction	108
2. Material and methods	109
2.1 Experimental site and land use management	109
2.2 Soil sampling and chemical analysis	111
2.3 Pyrosequencing of 16S and 18S rRNA gene sequences	111
2.4 Bioinformatic analysis of 16S and 18S rRNA gene sequences	112
2.5 Statistics	113
3. Results and discussion	113
3.1 Effect of agricultural management on soil chemical characteristics	113
3.2 Response of soil microbial diversity to land conversion to agriculture	114
3.3 Effect of agricultural management on soil bacterial and fungal taxonomic composition	118
4. Conclusion	120
Acknowledgements	120
3.3. Liens entre diversité microbienne et dynamiques du carbone dans les sols	121
Abstract	122
1. Introduction	123
2. Material and methods	124
2.1 Experimental site and land use management	124
2.2 Soil microcosms setup, gas- and soil sampling strategy	125
2.3 Total and ¹³ C-CO ₂ measurements	126
2.4 Soil DNA extraction	127
2.5 Pyrosequencing of 16S and 18S rRNA gene sequences	127
2.6 Statistics	128
3. Results and discussion	128

3.1 Effect of agricultural management on SOM- and FOM mineralization rates	128
3.2 Ecological link between land use management, carbon turnover and microbial diversity	131
Acknowledgements	133
Chapitre 4. Evaluation environnementale de systèmes SCV vs. labour : la spectroscopie comme outil synthétique de mesure de la qualité des sols	135
Abstract	139
1. Introduction	140
2. Material and methods	141
2.1 Study area and agricultural systems	141
2.2 Experimental approach	142
2.3 Soil sampling	143
2.4 Soil NIRS analysis	143
2.5 Soil physical, chemical, and microbial analysis	144
2.6 Statistical analysis	145
3. Results and discussion	145
3.1 NIRS ability to discriminate land use managements	145
3.2 NIRS ability to predict soil properties	145
3.3 Evaluating CA systems effect on soil C and N content using NIRS	151
4. Conclusion	153
Acknowledgements	153
Chapitre 5. Conclusion synthétique et perspectives	155
1. Conclusions	157
1.1 Rappel des objectifs de la thèse et de la démarche méthodologique	157
1.2 Effet de systèmes SCV vs. labour sur la productivité et les revenus agricoles	157
1.3 Effet de systèmes SCV vs. labour sur les propriétés chimiques, physiques et microbiologiques des sols	158
1.4 Liens fonctionnels existant entre pratiques culturales, diversité des communautés microbiennes et dynamique du carbone (C) dans les sols	160
1.5 Potentiel de la NIRS comme indicateur synthétique de la qualité des sols	161
1.6 Conclusion générale	161
2. Perspectives	163
2.1 Evaluer ces systèmes chez et par les agriculteurs	163
2.2 Diminuer le recours aux intrants chimiques externes	166
2.3 Investir dans les indicateurs moléculaires microbiens en milieu tropical	169
Références bibliographiques	171
Annexes	189

LISTE DES ABREVIATIONS

AdC / CA	Agriculture de Conservation / Conservation Agriculture
AEI	Agriculture Ecologiquement Intensive
AFD	Agence Française de Développement
AGDM	Above Ground Dry Matter
B-RISA	Bacterial Automated-Ribosomal Intergenic Spacer Analysis
C:N	Carbon to Nitrogen ratio
CEC	Capacité d'Echange Cationique
CEFE	Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CNRS)
CIRAD	Centre de coopération International en Recherche Agronomique pour le Développement (France)
CNRS	Centre National de la Recherche Scientifique (France)
COS / SOC	Carbone Organique du Sol / Soil Organic Carbon
CT	Conventional Tillage
DALaM	Department of Agricultural Land Management (MAF, Laos)
F:B	Fungal to Bacterial ratio
FAO	Food Agricultural Organisation
FFEM	Fond Français pour l'Environnement Mondial
GES	Gaz à Effet de Serre
ImpP	Improved Pasture
INRA	Institut National de Recherche Agronomique (France)
MAF	Ministry of Agriculture and Forestry (Laos)
MEA	Millennium Ecosystem Assessment
MOF	Matières Organiques Fraîches
MOS / SOM	Matières Organiques Sol
MOTU	Molecular Operational Taxonomic Unit
MWD	Mean Weight Diameter of soil particules
NAFRI	National Agricultural and Forestry Research Institute (Laos)
NIRS	Near Infrared Reflectance Spectroscopy
NPV / VAN	Net Present Value / Valeur Actuelle Nette
NT	No Tillage
PAFO	Provincial Agricultural and Forestry Office (Laos)
PAMPA	Programme d'Appui Multi Pays pour l'Agroécologie
PAS	Natural Pasture
PRONAE	Programme National Agroécologie (CIRAD-NAFRI, Laos)
PROSA	Programme Sectoriel en Agroécologie (CIRAD-MAF, Laos)
qPCR	quantitative Polymerase Chain Reaction
rDNA	ribosomal DesoxyriboNucleic Acid
rRNA	ribosomal RiboNucleic Acid
SCV / DMC	Semis direct sur Couverture Végétal / Direct seeding Mulch-based Cropping systems
URSIA	Unité de Recherche Systèmes et Ingénierie Agronomique (CIRAD, France)

LISTE DES ENCARTS

Encart I.1 Agricultures du monde	26
Encart I.2 Les zones de savane	30
Encart I.3 Terminologie relative à « l'intensification durable de la production agricole »	32
Encart I.4 Terminologie relative aux systèmes dits de « semis direct »	34
Encart I.5 Objectifs fixés aux systèmes agricoles innovants	36
Encart I.6 Méthodes physiologiques et biochimiques pour étudier les microorganismes du sol et leur fonction	47
Encart V.1 : Principes et outils pour une gestion intégrée des adventices (IWM)	67

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1 Principaux enjeux de l'intensification agricole selon le niveau d'intégration au marché et de productivité des terroirs agricoles	28
Tableau I.2. Histoire agraire récente de la Plaine des Jarres	55
Tableau I.3 Facteurs et modalités étudiées dans la matrice expérimentale	58
Tableau I.4 Localisation et détail des activités testées sur le réseau de fermes et de parcelles pilotes	58
Tableau I.5 Critères et indicateurs retenus pour l'évaluation des systèmes agricoles à l'échelle parcellaire	61
Table II.1. Experimental design and treatments selected for the study	70
Table II.2. Soil productivity per fertilization level and cropping system (total 2007-2010)	74
Table II.3 Profitability per fertilization level and cropping system (total 2007-2010)	76
Table III.1 Top soil (0-10cm layer) physicochemical characteristics and crop residues returns according to land use management (56 plots)	99
Table III.2. Main land use management characteristics	110
Table III.3. Top soil (0-10cm) chemical characteristics, microbial molecular abundance and diversity according to land use management	113
Table IV.1. Prediction of soil physico-chemical properties using NIRS (125 samples)	150

LISTE DES FIGURES

Figure IG.1 Effet des systèmes agricoles sur les propriétés, le fonctionnement et les services rendus par les sols	18
Figure IG.2. Structure du document de thèse	20
Figure I.1 Paramètres impliqués dans les processus d'humification et de minéralisation des matières organiques des sols	41
Figure I.2 Classification de la faune et flore du sol selon la taille	43
Figure I.3 Abondance relative de la faune et flore du sol	43
Figure I.4 Les fonctions biologiques de la faune et flore du sol	45
Figure I.5 Les services écosystémiques liés à l'activité de la faune et flore du sol	45
Figure I.6 Approches moléculaires pour l'étude des communautés microbiennes du sol	47
Figure I.7 Profils de spectres bruts de sols réfléchis dans le proche infrarouge	49
Figure I.8 Localisation de la plaine des Jarres, province de Xieng Khouang, Laos	51
Figure I.9. Paysages caractéristiques de la Plaine des Jarres	51
Figure I.10 Précipitations et températures enregistrées à Phonsavanh (1982-2007)	53
Figure I.11 Carte pédologique du district de Phoukout	53
Figure I.12 Approche expérimentale DDATE	56
Figure I.13 Site expérimental de Ban Poa	56
Figure II.1 CA implements used for land preparation and sowing	72
Figure II.2 Grain and stubble yields per fertilization level, cropping system and crop	74
Figure II.3 Production costs distribution per fertilization level and cropping system (total 2007 - 2010)	76
Figure II.4 Manual wheel no-till planter (Brazil)	80
Figure II.5 Local prices evolution of mineral fertilizers and main crops	83
Figure III.1 Experimental design	94
Figure III.2 Correlation matrix of the principal component analysis (PCA) performed on soil physicochemical parameters	99
Figure III.3 Top soil box and whisker representation of soil molecular biomass, bacterial and fungal density (52 plots)	101
Figure III.4 PCA factorial maps of bacterial community genetic structures (B-ARISA fingerprints) and correlation circle of the coinertia analysis performed between the PCA of B-RISA fingerprints and the PCA of soil physicochemical characteristics (52 plots)	104
Figure III.5 Land use management sampled in Poa experimental site	110

Figure III.6 Schematic representation based on the “hump backed” model of the level of bacterial and fungal diversity according to the level of environmental stress induced by the different agricultural systems	116
Figure III.7 Bar plot representation of soil bacterial and fungal phyla relative abundance according to land use management; and factorial maps of the principal component analysis (PCA) performed on soil bacterial and fungal phyla relative abundance	117
Figure III.8 Soil microcosms set up and gas sampling strategy	126
Figure III.9 Cumulative C-CO ₂ release per gram of initial SOC during the 64 days of incubation according to land use management in: a) non-amended microcosms (control), and b) microcosms amended with wheat residues. Cumulative c) wheat residue mineralization, and d) priming effect induced by wheat residue addition	129
Figure III.10 Factorial map of the coinertia analysis performed between soil respiration activities until T7 and microbial composition and diversity at T0	132
Figure IV.1 Experimental approach for the evaluation of soil quality changes using NIRS	143
Figure IV.2 Equipments used for NIRS analysis	144
Figure IV.3 Factorial maps of the principal component analysis performed on all NIRS data (2009-2010, 13 sites, 3 layers, 562 samples)	146
Figure IV.4 Factorial map of the principal component analysis performed on selected NIRS data (2010, 4 sites, 0-30cm, 165 samples)	147
Figure IV.5 Factorial maps of the coinertia analysis performed between the PCA of soil physical, chemical and microbial characteristics, and the PCA of NIRS data (Poa, 2009, 0-10cm, Cl to ClLo soils, 71 samples)	148
Figure IV.6 Soil organic carbon and total nitrogen content according to soil layer and agricultural management (Poa, 2010, clayey soils, 171 samples)	152
Figure IV.7 Soil organic carbon and total nitrogen content according to soil layer and agricultural management (12 sites, Cl to SaClLo soils, 97 samples)	153
Fig. V.1 Etapes et priorités dans la conception de systèmes innovants en milieu contraint (sols acides et fortement lessivés)	165

LISTE DES ANNEXES

- Annexe 1.** Prix des intrants et extrants utilisés pour l'analyse économique (moyenne 2007-2010)
- Annexe 2.** Rendements moyens en grain par niveau de fertilisation, année et système de culture
- Annexe 3.** Traitements herbicides par année et par système
- Annexe 4.** Analyse en Composantes Principales réalisée sur les données physico-chimiques (site de Poa, horizon 0-10cm, sélection sols argileux, n=52, 2009).
- Annexe 5.** Classes d'agrégats par modes d'usage (Poa, horizon 0-10cm, 2009, n=369)
- Annexe 6.** Impact des modes d'usage sur la structure génétique des communautés bactériennes des sols (exemple de profils B-ARISA)
- Annexe 7.** Courbes de raréfaction de la richesse en bactéries et en champignons selon le nombre de séquences analysées

Introduction générale

1. Contexte de l'étude

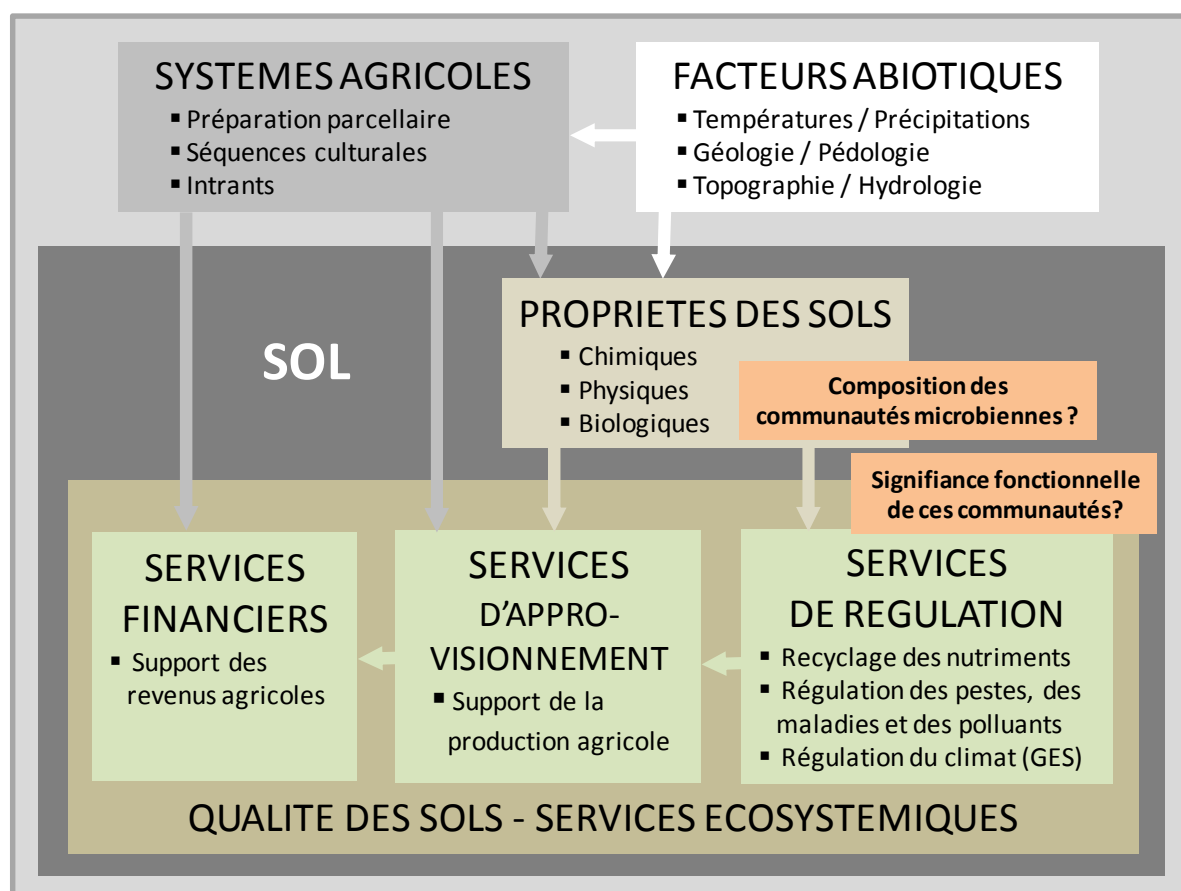
Réinvestir dans l'agriculture est essentiel pour lutter contre la pauvreté (De Schutter, 2011), et répondre à une demande alimentaire et non alimentaire croissante (Tilman et al., 2002 ; FAO, 2006). L'intensification agricole est cependant souvent décriée pour ses effets négatifs sur les ressources naturelles (Matson, 1997 ; Tilman et al., 2002 ; MEA, 2005), et il existe aujourd'hui un large consensus sur la nécessité de développer et de promouvoir des systèmes agricoles plus durables que ceux promus lors des précédentes révolutions agricoles (Mazoyer et Roudart, 2002 ; Griffon, 2008).

L'évaluation des performances, des impacts, et de la durabilité des systèmes agricoles nécessite la définition d'objectifs et d'indicateurs (Gras et al., 1989). Selon la mouvance agroécologique actuelle, les systèmes agricoles innovants doivent permettre d'augmenter la production et les revenus agricoles, tout en préservant les ressources supportant les activités agricoles (De Schutter, 2011 ; Doré et al. 2011). Certaines variables, telles que la productivité des sols ou les revenus agricoles, sont relativement accessibles. Les paramètres en lien avec le fonctionnement biologique, et les services de régulation fournis par les sols (Figure IG.1), le sont beaucoup moins et nécessitent une caractérisation indirecte à l'aide d'indicateurs définis comme « *des variables fournissant des renseignements sur d'autres variables plus difficiles d'accès* » (Gras et al., 1989).

Dans les régions des tropiques humides, concilier production agricole et protection des ressources naturelles est un défi majeur et particulièrement difficile à relever. Du fait de la nature des sols et du régime des précipitations, les zones tropicales humides sont pour l'essentiel des milieux fragiles, rapidement dégradables si les modes de culture sont inadaptés (Dabin, 1984). Par ailleurs, ce sont également les régions où la population croît le plus vite et où la pauvreté affecte le plus grand nombre (IAEA, 2000 ; FAO, 2006).

Parmi les différentes voies qu'agronomes et agriculteurs ont exploré pour relever ce défi, l'agriculture de conservation (AdC) et les systèmes de semis direct sous couvert végétal (SCV) apparaissent comme des modes de culture prometteurs pour assurer à la fois production agricole et protection de la ressource sol, et permettre ainsi une gestion durable des milieux tropicaux (Séguy et al., 2001 et 2006 ; Bolliger et al., 2006 ; Hobbs, 2007 ; Kassam et al., 2009). L'AdC a connu une diffusion importante et rapide dans les grandes agricultures mécanisées (Derpsh et al., 2010), car elle a montré qu'elle pouvait permettre de protéger les sols de l'érosion (Lal et al., 2007), et de diminuer les coûts de production tout en maintenant les niveaux de rendement des cultures (Dixon, 2003 ; Triplett and Dick, 2008).

Figure IG.1 Effet des systèmes agricoles sur les propriétés, le fonctionnement et les services rendus par les sols (schématisation d'après MEA, 2005 ; Palm et al., 2007 ; Rache and Cadisch, 2013)



L'agriculture de conservation est par ailleurs promue par rapport au labour comme outil permettant d'améliorer sur le long terme le fonctionnement biologique des sols (Govaerts *et al.*, 2007 ; Hobbs, 2007) et les services de régulation qui y sont associés (Metay, 2005).

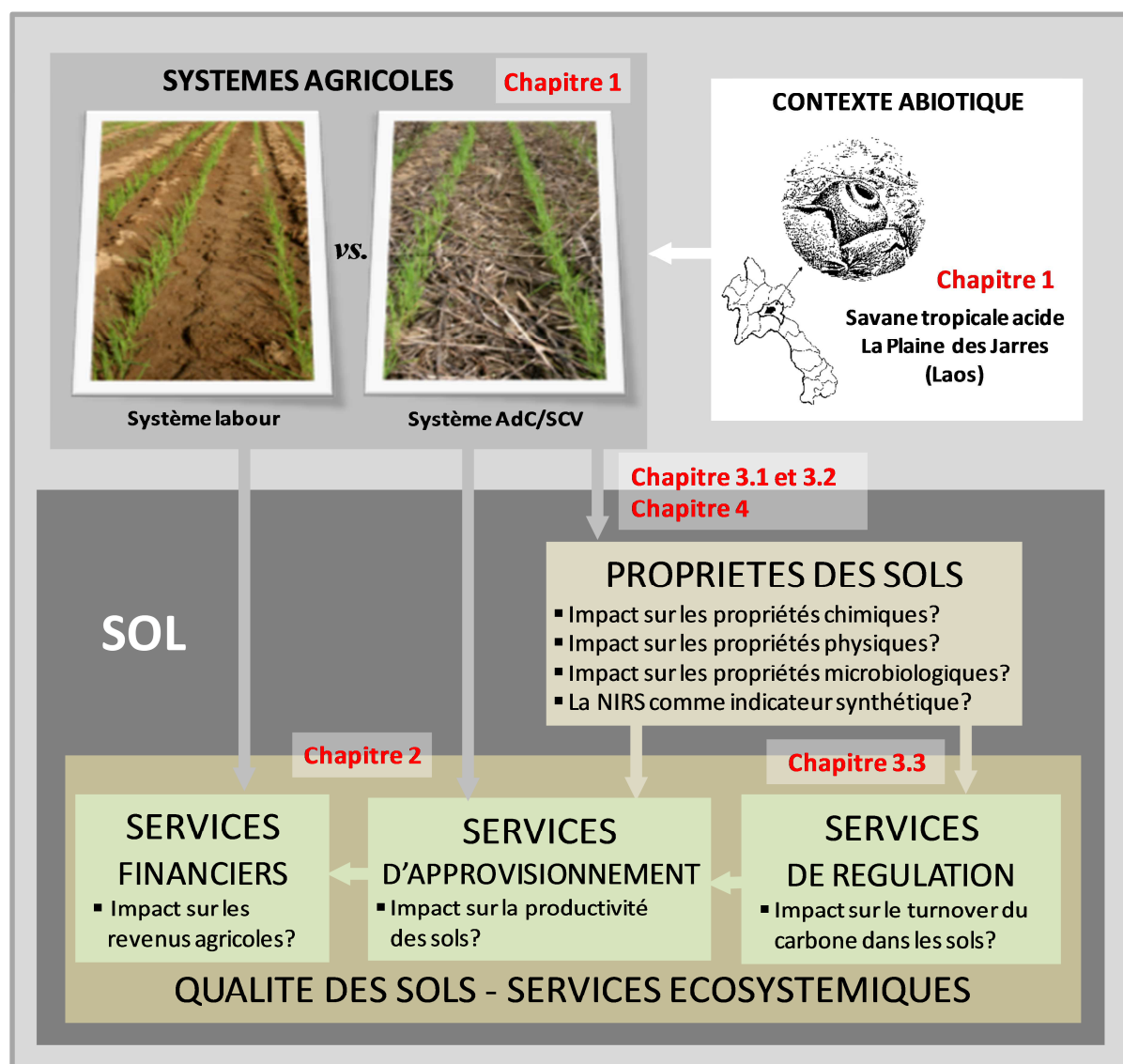
Si les systèmes AdC sont pratiqués sur des surfaces significatives en grande culture mécanisée, leur diffusion reste néanmoins à ce jour limitée en contexte de petite agriculture familiale (Derpsh *et al.*, 2010), avec de fait un nombre limité d'études relatives à l'impact de ces systèmes sur les propriétés des sols, leur fonctionnement biologique et les services écosystémiques qui en découlent (production agricole, régulation, biodiversité, état sanitaire).

Les microorganismes telluriques jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement biologique des sols et plus largement dans les services écosystémiques que ces derniers fournissent. Malgré tout, cette composante microbienne est encore mal connue et souvent considérée comme une boîte noire en termes de diversité et de fonctionnalité (Ranjard *et al.*, 2010). Les avancées récentes en biologie moléculaire et en écologie fonctionnelle permettent aujourd'hui de séquencer et d'analyser précisément la diversité taxonomique des communautés microbiennes telluriques sur de grandes échelles d'analyse (spatiales et temporelles), et de relier cette diversité à des mesures de fonctionnement biologique (Maron *et al.*, 2011). Ces nouvelles approches permettent de mesurer l'impact des modes d'usages sur la biodiversité taxonomique et fonctionnelle des communautés microbiennes des sols, et d'observer dans le même temps l'impact de ces modifications sur les services écosystémiques fournis par les sols (Maron *et al.*, 2011).

Ce travail de thèse s'inscrit dans cette problématique générale d'évaluation multicritères de l'impact de systèmes agricoles sur la qualité des sols, définie ici comme la capacité des sols à fournir des services écosystémiques (Palm *et al.*, 2007). Les travaux entrepris permettent en particulier d'évaluer l'apport d'indicateurs de l'état microbiologique des sols dans ces évaluations multicritères. Ce travail de recherche se base sur un cas d'étude spécifique en zone tropicale humide: celui de la mise en valeur agricole d'une savane herbacée acide dans le nord-est du Laos, la Plaine des Jarres.

Cette thèse s'inscrit dans la continuité des programmes de recherche lancés par le CIRAD et ses partenaires visant à évaluer les performances agronomiques et économiques de systèmes SCV en région tropicale (www.agroecologie.cirad.fr). Il entre également dans les problématiques de recherche de l'INRA (www6.dijon.inra.fr/umragroecologie) et du CNRS (www.cefe.cnrs.fr) visant à évaluer l'impact des modes d'usage, et notamment des pratiques agricoles, sur les propriétés et le fonctionnement biologique des sols, et plus largement sur les services écosystémiques que peuvent fournir ces sols.

Figure IG.2. Structure du document de thèse



2. Objectifs de l'étude et structure du document

Dans un contexte spécifique de savane herbacée acide, cette thèse a pour objectifs d'évaluer, à partir de données collectées au champ et d'expérimentations en laboratoire :

- 1) l'impact, à l'échelle de la parcelle agricole, de systèmes SCV *vs.* labour sur la productivité des sols, les revenus agricoles, et les propriétés physiques, chimiques et microbiologique des sols,
- 2) les liens fonctionnels existant entre les pratiques culturales, la diversité des communautés microbiennes et la dynamique du carbone (C) dans le sol et,
- 3) l'utilisation potentielle de la spectroscopie dans le proche infrarouge (NIRS) comme indicateur synthétique de la qualité des sols et outil de pilotage de systèmes de culture.

La figure IG.2 propose un schéma fonctionnel de la thèse mettant en perspective les questions énoncées. Ce manuscrit est structuré en cinq chapitres, incluant un chapitre introductif, trois chapitres de résultats et un chapitre de synthèse et de perspectives :

Le premier chapitre introduit la problématique et le cas d'étude sur lesquels s'appuie ce travail de thèse. Nous proposons dans une première partie une analyse des dynamiques et des enjeux relatifs à l'intensification agricole en zone tropicale et notamment dans les zones de savane acides, ainsi qu'une description des différentes alternatives techniques promues pour une intensification agricole plus « écologique ». Nous proposons dans une deuxième partie une synthèse des critères et indicateurs utilisés pour évaluer les systèmes agricoles et notamment leur impact sur « l'état et le fonctionnement biologique » des sols. Enfin, dans une troisième partie, nous proposons une description de la zone d'étude, de la démarche et du dispositif expérimental mis en place, et des indicateurs retenus pour l'évaluation des systèmes agricoles testés.

Le deuxième chapitre est divisé en deux parties. La première partie propose une évaluation agronomique et économique de trois systèmes SCV et d'un système labour, après trois années de culture. La deuxième partie analyse les conditions nécessaires à mettre en œuvre pour l'adoption et la diffusion d'itinéraires techniques innovants permettant d'accroître la durabilité de la production agricole. Ce chapitre est présenté sous la forme d'un article scientifique qui a été accepté pour publication dans la revue *International Journal of Agricultural Sustainability* (Lienhard et al., 2013 ; DOI:10.1080/14735903.2013.806419).

Le troisième chapitre propose une évaluation environnementale de ces systèmes agricoles, et notamment de leurs effets sur les communautés microbiennes et le fonctionnement biologique des sols. Ce travail est réalisé sur six modes d'usage correspondant à des niveaux d'intervention et de perturbation des sols contrastés : un système labour, trois systèmes SCV, un pâturage amélioré géré de façon intensive, et le pâturage naturel géré de façon extensive et pris comme témoin. Il est divisé en trois parties. La première partie décrit l'effet de ces systèmes sur les propriétés physico-chimiques des sols, et sur l'abondance et la structure génétique des communautés microbiennes des sols, après deux années de culture. Ce chapitre est présenté sous la forme d'un article scientifique qui a été accepté pour publication dans la revue *Agronomy for Sustainable Development* (Lienhard et al. 2013, Volume 33 (2), pp 375-384, DOI 10.1007/s13593-012-0099-4). La deuxième partie propose une étude plus fine de l'impact de ces systèmes agricoles sur la diversité microbienne des sols, par le biais de techniques de séquençage à haut débit de l'ADN microbien (ou pyroséquençage) qui permettent de réaliser des inventaires de la diversité taxonomique bactérienne et fongique. Ce chapitre est présenté sous la forme d'un article scientifique qui a été accepté pour publication dans la revue *Agronomy for Sustainable Development* (Lienhard et al., 2013 ; DOI: 10.1007/s13593-013-0162-9). La troisième partie étudie les liens existant entre ces modes d'usage, la diversité microbienne et le turnover du carbone dans leurs sols, par le biais d'outils issus de l'écologie fonctionnelle (mesures d'activités respiratoires en microcosmes). Cette dernière partie est également présentée sous la forme d'un article scientifique qui a été accepté pour publication dans la revue *Environmental Chemistry Letters* (Lienhard et al., 2013 ; DOI: 10.1007/s10311-013-0420-8).

Le quatrième chapitre propose une évaluation prospective de la spectroscopie de réflectance dans le proche infrarouge (NIRS) comme indicateur synthétique de la qualité des sols et outil potentiel de pilotage de systèmes de culture. Cette évaluation s'appuie sur des systèmes agricoles et des échantillons de sol pris sur des stations expérimentales et sur des parcelles d'un réseau d'agriculteurs pilotes. Ce chapitre est également présenté sous la forme d'un article scientifique en cours de préparation devant être soumis au journal *Soil Biology and Biochemistry*.

Dans **un cinquième** et dernier **chapitre**, nous proposons une synthèse des principaux résultats obtenus, et une réflexion sur leurs limites d'interprétation. Les perspectives de ce travail de thèse porte sur la validation à plus grande échelle de ces résultats et sur la valorisation opérationnelle de ces indicateurs microbiens dans les domaines de la recherche en ingénierie des systèmes et de l'évaluation environnementale de systèmes agricoles.

Chapitre 1

Problématique et cas d'étude

L'augmentation et la sécurisation de la production agricole sont deux enjeux majeurs compte tenu de la croissance attendue de la population mondiale, des changements de modes de consommation et de styles de vie (demande accrue en protéines d'origine animale, accroissement de l'urbanisation, élévation des revenus des ménages), et de la demande croissante en produits agricoles à vocation non alimentaire (énergie, matériaux, santé ; FAO, 2006 ; De Schutter, 2011). Ce besoin d'accroître et de sécuriser la production agricole induit une pression significative sur les ressources foncières de la planète (Tilman et al. 2002), et notamment sur celles des pays en voie de développement (Leroy, 2000).

L'augmentation de la production agricole peut se faire par une intensification et une spécialisation des systèmes de production dans les zones cultivées, et par l'extension des surfaces agricoles (Leroy, 2000). Selon la FAO (2011), dix pour cent des terres émergées sont aujourd'hui cultivées (soit 1 500 Mha) sur les 25% (3 900 Mha) potentiellement cultivables. La majeure partie de ces réserves foncières est composée de sols acides (2 400 Mha), principalement localisés dans les zones tropicales humides (1 700 Mha). La mise en culture des sols acides des tropiques humides est un sujet néanmoins très controversé car le besoin d'étendre les frontières agricoles est en conflit direct avec la nécessité de préserver les écosystèmes forestiers tropicaux, notamment en termes de protection et de conservation de la biodiversité et des ressources en eau (IAEA, 2000).

Encart I.1 Agricultures du monde (d'après Mazoyer et Roudart, 2002)

▪ **La révolution agricole contemporaine**

Survenue lors de la seconde moitié du 20^e siècle dans les pays développés et quelques secteurs des pays en développement. Elle est basée sur la grande motorisation-mécanisation, la sélection de variétés de plantes et de races d'animaux à fort potentiel de rendement, une utilisation large des engrais, des aliments concentrés et des produits de traitement des plantes et des animaux domestiques.

▪ **La révolution verte**

Variante de la révolution agricole contemporaine survenue dans les pays en développement à partir des années 1960 et dépourvue de grande motorisation-mécanisation ; basée sur la sélection de variétés à fort rendement potentiel (riz, maïs, blé, soja) et de quelques grandes cultures d'exportation ; basée aussi sur une large utilisation des engrais chimiques, des produits de traitement et, le cas échéant, sur une bonne maîtrise de l'eau d'irrigation et du drainage.

▪ **Les agricultures orphelines**

Concerne la grande majorité du paysannat des pays en développement qui n'a pas eu accès aux moyens de production de l'une ou l'autre de ces révolutions agricoles : motorisation-mécanisation quasi-absente ; semences améliorées, engrais et produits phytosanitaires peu ou pas utilisés dans de vastes zones d'agriculture pluviale ou sommairement irriguées.

1. L'intensification agricole en milieu tropical

1.1 Contexte et enjeux

L'« agriculture intensive » est très souvent dénoncée dans les médias comme source d'effets négatifs, en particulier au niveau environnemental et sanitaire (Bonny, 2011). Pourtant la notion d'intensification n'a de sens que rapportée à un facteur de production particulier. Selon la commission de terminologie (1993) une agriculture intensive est « *une agriculture qui utilise davantage de facteurs de production par unité de surface* ». Cette notion est étroitement liée à celle de productivité : « *Plus une agriculture est intensive, plus la production par hectare est élevée* ». L'accent est traditionnellement mis sur deux facteurs pour accroître la productivité de la terre (Bonny, 2011): le travail et le capital.

L'aménagement de terrasses rizicoles, les systèmes avec haies de contour, ou la fabrication de compost sont des exemples d'intensification agricole par le travail pratiqués et promus dans de nombreux pays tropicaux et notamment en Asie du Sud Est (Lienhard et al., sous presse). Mazoyer et Roudart (2002) montrent cependant que les modèles et dynamiques contemporaines d'intensification agricole (révolution agricole contemporaine et révolution verte, Encart I.1) sont principalement basés sur une augmentation du capital par unité de surface.

Dans les régions agricoles planes ou à faible dénivelé, l'investissement dans du matériel agricole destiné au travail du sol, ou le recours à de la prestation de service pour du labour mécanisé, est la forme la plus répandue d'intensification agricole par le capital (Köller, 2003 ; Lal et al., 2007). Le travail du sol est une pratique ancestrale dont un des buts premiers est de créer un environnement favorable à la germination des graines et au développement des racines (Köller, 2003). Depuis l'invention de la "charrue moderne" par Thomas Jefferson en 1784, son utilisation s'est largement répandue pour devenir rapidement un des symboles de l'agriculture moderne (Lal et al., 2007). La pratique du labour, avec une charrue à versoirs, reste encore aujourd'hui la technique de travail du sol la plus répandue dans le monde (Dersph, 2005). Cette pratique a permis d'augmenter (i) la productivité des cultures grâce notamment à son action de contrôle sur le développement des adventices et de fragmentation de la structure du sol (Köller, 2003), et (ii) les surfaces cultivées dans les zones d'agriculture traditionnellement manuelles.

Tableau I.1 Principaux enjeux de l'intensification agricole selon le niveau d'intégration au marché et de productivité des terroirs agricoles

Terroirs	Enjeux principaux
<p>1. Zones d'agriculture intensive</p> <ul style="list-style-type: none"> - Bénéficiaires de la révolution agricole contemporaine et/ou de la révolution verte - Intégrées de longues dates au marché - Empreinte environnementale forte 	<ul style="list-style-type: none"> - Maintenir/ améliorer les revenus agricoles par le maintien de la productivité des sols et une diminution des coûts de production - Limiter la pollution des ressources (eau, sol, air) - Améliorer la qualité sanitaire des produits
<p>2. Zones en cours d'intensification agricole</p> <ul style="list-style-type: none"> - Double influence des pouvoirs publics (« Push ») et du marché (« Pull ») - Importance du secteur privé et de l'agriculture contractuelle - Intensification agricole basée sur le modèle des zones intensives. - Processus de dégradation rapide des ressources naturelles 	<ul style="list-style-type: none"> - Améliorer les revenus agricoles et/ou la productivité du travail par une augmentation de la productivité des sols - Limiter l'endettement des agriculteurs et leur dépendance vis-à-vis du secteur privé - Limiter la dégradation des ressources naturelles (déforestation)
<p>3. Terres marginales ou dégradées</p> <ul style="list-style-type: none"> - Réserves foncières importantes - Milieu peu productif en l'état pour l'agriculture - Investissements nécessaires pour leur mise en valeur agricole (ou leur restauration) difficilement compatibles avec les capacités financières de petits exploitants 	<ul style="list-style-type: none"> - Améliorer/ restaurer à moindre coût la fertilité des sols (correction des carences minérales) - Améliorer l'efficacité des intrants externes (fertilisants) - Limiter l'accaparement du foncier par l'agro-business

Depuis le milieu du XXe siècle, l'intensification agricole basée sur le labour est cependant questionnée du fait de ses externalités négatives sur la fertilité et la qualité des sols. Les problèmes d'érosion ("*Dust Bowl*") apparus aux Etats-Unis dans les années 1930 ont conduit au développement de techniques alternatives au labour (Lal et al., 2007). Les études menées dans des milieux variés ont souligné des problèmes communs aux sols labourés: sensibilité accrue à l'érosion (Montgomery 2007), accélération de la vitesse de minéralisation des MOS (Balesdent et al., 2000 ; Six et al., 2002) et d'émissions de gaz à effet de serre (Metay, 2005), tassement et limitation de la circulation de l'eau (Köller, 2003), diminution de la biodiversité du sol (Lavelle et al., 1997 ; Kladvko, 2001), et coût énergétique et financier important de cette pratique (Triplett and Dick, 2008).

Les enjeux liés à l'intensification agricole ne sont pas cependant uniquement agronomiques (comment limiter la fréquence et l'intensité du travail du sol ? gérer de façon plus intégrée les adventices et les pestes ? réduire et mieux valoriser les intrants chimiques ? etc.), économiques (comment augmenter et sécuriser la production agricole ? diminuer le coût énergétique et financier de la production agricole ? etc.), environnementaux (comment limiter la dégradation des ressources, les pollutions, et les pertes en biodiversité ?) ou sanitaires (comment préserver ou améliorer la qualité sanitaire des produits agricoles ?). Ils sont également fonciers et sociaux : dans de nombreux pays en développement, l'intensification agricole est de plus en plus liée au secteur privé (entreprises nationales ou multinationales) sous forme d'agriculture contractuelle (Prowse, 2012) ou d'acquisition de concessions (Borras, 2011). Ces dynamiques font craindre des déséquilibres accrus dans l'accès au foncier et dans la gouvernance de la production agricole (Deininger, 2011 ; Bartlett, 2012).

Par ailleurs, les enjeux liés à l'intensification agricole ne sont pas statiques, les systèmes agricoles évoluant localement de façon dynamique selon les types et objectifs d'exploitation, leur niveau d'intégration au marché, et le niveau de dégradation des terroirs agricoles considérés (Lestrelin et Castella, 2011). Le tableau I.1 propose une lecture (*personnelle*) des principaux enjeux liés à l'intensification agricole en zone tropicale selon les terroirs et les dynamiques agraires considérés.

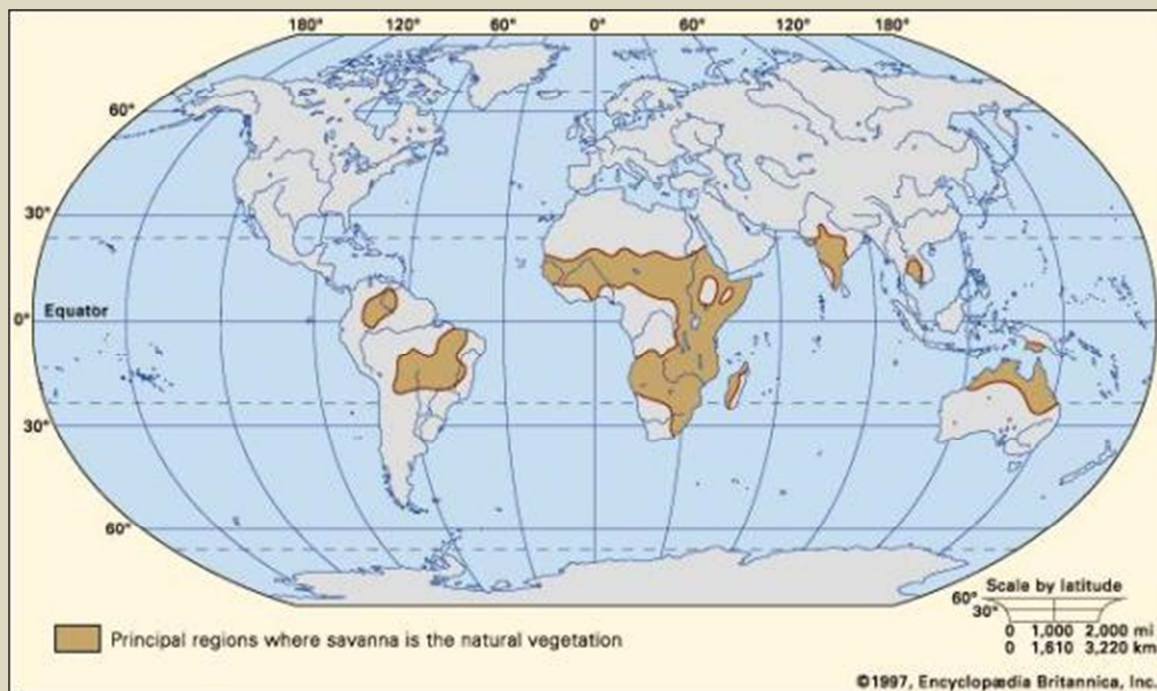
Encart I.2 Les zones de savane

▪ « La savane est une formation végétale propre aux régions chaudes à longue saison sèche et dominée par des plantes herbacées, vivaces et de haute taille, de la famille des Poacées (Graminées). Elle est plus ou moins parsemée d'arbres ou d'arbustes. Selon la densité croissante des espèces ligneuses, on parle de « savane herbeuse », de « savane arbustive », de « savane arborée », de « savane boisée », puis de forêt claire, la transition se faisant en général de manière progressive » (Larousse, éditions 2009). Les savanes herbacées sont également communément appelées prairies tropicales.

Principales caractéristiques de ces zones de savane :

- Le climat, avec une localisation spécifique dans les régions chaudes où la pluviométrie (500 – 1400 mm/an) est concentrée sur une saison des pluies de 6 à 8 mois succédée par une longue saison sèche propice aux feux. L'écosystème de savane est le résultat de l'utilisation répétée du feu par les hommes (Andersen et al., 2005).
- Leur végétation est majoritairement composée de plantes à métabolisme photosynthétique de type C4, caractéristique des graminées d'origine tropicale et aride (Percy and Ehleringer, 1984).
- Parmi les organismes vivants des sols, les termites sont particulièrement abondantes en zone de savane (jusqu'à 95% de la biomasse totale des insectes du sol, et jusqu'à 10% de la biomasse animale tellurique) et jouent un rôle déterminant dans la structure et la qualité des sols (Dawes and Gromadzki, 2005).

Les savanes sont présentes sur l'ensemble des continents : on les trouve notamment en Afrique où elles couvrent plus de 50% des terres, en Amérique latine (Cerrados brésiliens, Venezuela, Colombie, Bolivie et Guyane), en Asie (Inde et Asie du Sud Est continentale) et dans le nord de l'Australie.



Distribution mondiale des zones de savane (©1997, Encyclopædia Britannica, Inc)

1.2 Les enjeux spécifiques relatifs aux savanes acides

Le plus grand potentiel pour l'extension et l'intensification de l'agriculture résident dans les savanes acides des régions tropicales et subtropicales (IAEA, 2000). En effet, elles occupent des surfaces importantes (environ 25% des terres émergées non gelées) de terres potentiellement cultivables dans de nombreux pays d'Afrique, d'Amérique latine et d'Asie du Sud Est (Encart I.2).

D'un point de vue agro-climatique, ces zones sont propices à l'agriculture pluviale : les *Cerrados* brésiliens contribuent notamment aujourd'hui pour une part importante à la production agricole du pays (Bolliger et al, 2006 ; Séguy et al., 2006) ; en Afrique, les savanes sont depuis longtemps le moteur de la production agricole (Jamin et al., 2003).

Ces terres sont cependant majoritairement considérées comme marginales du fait de leur acidité, de leur faible fertilité naturelle, et de leur propension à se dégrader rapidement après leur mise en culture (Dabin, 1984). La mécanisation des opérations culturales est favorisée par la topographie (faible dénivelé), mais reste principalement limitée au travail du sol (Derpsch, 2005). Comparé au travail du sol manuel ou attelé, la popularité croissante des motoculteurs dans les pays en développement (Johansen et al, 2012) permet aujourd'hui de diminuer les temps de préparation parcellaire et d'augmenter l'intensité et la profondeur du travail du sol, mais risque également de favoriser la dégradation de ces sols (Six et al., 2002).

La mise en valeur durable de ces zones de savane est par ailleurs limitée par la pauvreté des populations qui tentent d'exploiter ces espaces (IAEA, 2000) : les systèmes de culture sans ou à faible niveau d'intrants sont difficilement viables dans ces sols fortement acides et lessivés (Fageria et Baligar, 2008).

Par ailleurs, le vaste réservoir foncier des savanes et leur potentiel agricole font de ces zones des espaces particulièrement convoités par le secteur de l'agro-business. Ainsi, en 2008 et 2009, plus des deux-tiers des acquisitions de concessions privées ont été réalisées dans les zones de savane africaine (Deneiger, 2011).

Il y a donc un besoin urgent pour ces zones de savane acide :

- 1) de concevoir des systèmes agricoles productifs permettant de redresser la fertilité chimique de ces sols tout en préservant leurs propriétés organiques, biologiques et structurales,
- 2) de concevoir des systèmes agricoles compatibles avec le niveau de mécanisation et de technicité des agricultures locales (manuelles à faiblement motorisées),
- 3) de renseigner les conditions et besoins (financiers, structurels et institutionnels) nécessaires pour la mise en œuvre opérationnelle de ces systèmes par des petites exploitations familiales aux capacités d'investissement limitées.

Encart I.3 Terminologie relative à « l'intensification durable de la production agricole »

□ **Intensification durable**

« Maximisation de la production primaire par unité de surface sans compromettre l'aptitude du système à maintenir sa propre capacité de production. » (FAO, 2009)

□ **Intensification écologique**

« Processus qui accroît l'augmentation des rendements tout en réduisant l'empreinte écologique de l'agriculture » (Cassman 1999)

« Piloter les processus biologiques des agroécosystèmes, et notamment les interactions biotiques, pour en optimiser l'exploitation et ainsi limiter l'usage des intrants par substitution ou en augmenter l'efficacité d'utilisation tout en maintenant ou en améliorant la productivité des cultures » (INRA, enjeux structurants, www.inra.fr)

□ **Agriculture écologiquement intensive (AEI)**

« Utiliser les fonctions des écosystèmes, les processus écologiques, mais aussi l'information et le savoir, en remplacement, dans la mesure du possible, des intrants habituels, notamment chimiques, tout en maintenant un niveau de production élevé » (Griffon, 2008 ; Bonny, 2011)

□ **Agroécologie**

L'agroécologie est à la fois une science, un mouvement et un ensemble de pratiques (Wezel et al., 2009). En tant que science, l'agroécologie est l'« application de la science écologique à l'étude, à la conception et à la gestion d'agroécosystèmes durables » (Altiéri, 1995). En tant que mouvement, l'agroécologie prône la reconnaissance et le soutien à l'agriculture paysanne par opposition à l'agriculture industrielle (Wezel et al., 2009). En tant qu'ensemble de pratiques agricoles, l'agroécologie recherche « les moyens d'améliorer les systèmes agricoles en imitant les processus naturels, créant ainsi des interactions et synergies biologiques bénéfiques entre les composantes de l'agroécosystème » (De Schutter, 2011).

□ **Ecoagriculture**

« Approche de gestion des paysages visant à : 1) préserver ou accroître la biodiversité et les services écosystémiques, 2) développer des systèmes agricoles plus durables et productifs et 3) améliorer les conditions de vie des populations rurales » (McNeely and Scherr, 2003)

□ **Agriculture persistante (*Evergreen agriculture*)**

« Combinaison des principes de l'Agroforesterie avec des pratiques de conservation des sols » (Garrity, 2011). On parle également d'agriculture de conservation avec des arbres (*Conservation Agriculture With Trees*)

□ **Révolution doublement verte**

« Concept consistant à passer d'une logique de développement agricole fondée sur la maîtrise des milieux à une autre, fondée sur la connivence avec les écosystèmes : jouer avec, non contre la variabilité des systèmes, mettre en pratique dans l'agriculture la connaissance accumulée par l'écologie scientifique » (Griffon, 1996).

□ **Autres : Agriculture intégrée, Permaculture, Agriculture à haute intensité écologique, à haut rendement environnemental** etc.

1.3 Intensification écologique de l'agriculture : entre concepts et réalités

Depuis plusieurs années, de nombreux acteurs et institutions militent pour une approche plus large de l'intensification, et la prise en compte d'autres facteurs que le travail ou le capital dans la conception et l'évaluation des systèmes agricoles. Il s'agit notamment de mieux intégrer les savoirs et savoir-faire (traditionnels, scientifiques et techniques), de mieux valoriser et favoriser les interactions biotiques au sein des agrosystèmes (Altiéri, 1995 ; Griffon, 1996 et 2008; McNeely and Scherr, 2003 ; Pretty, 2008 ; Doré et al. 2011).

Ces mouvements de pensées ont donné naissance à une terminologie abondante relative à l'intensification durable de la production agricole (Encart I.3), qui est cependant parfois source de confusion : « *On entretient volontairement la confusion entre révolution doublement verte, agroécologie, écoagriculture et agriculture à haut rendement environnemental. Peu importe du moment qu'on confère à l'agriculture des "habits verts"* » (Bonny 2011). Dans le cadre de ce travail, nous nous référerons au concept d'intensification écologique tel que défini par l'INRA (ci-dessous), appliqué au contexte spécifique des zones de savane acide (chapitre 1.2) et aux systèmes de culture sous couvert végétal (chapitre 1.4).

Intensification écologique
 (INRA, enjeux structurants, www.inra.fr)
 « Piloter les processus biologiques des agroécosystèmes, et notamment les interactions biotiques, pour en optimiser l'exploitation et ainsi limiter l'usage des intrants par substitution ou en augmenter l'efficacité d'utilisation tout en maintenant ou en améliorant la productivité des cultures »

1.4 Le cas de l'agriculture de conservation et des systèmes de culture sous couvert végétal (SCV)

On assiste depuis quelques décennies à une diversification des modes de préparation parcellaire, depuis le labour conventionnel avec retournement de la couche arable sur 20-30 cm de profondeur, vers des pratiques de travail simplifié du sol (réduction de la fréquence, de l'intensité et/ou de la profondeur du travail), allant jusqu'à la suppression totale du travail du sol (semis direct) (Encart I.4).

Encart I.4 Terminologie relative aux systèmes dits de « semis direct »

□ ***Reduced tillage (15-30% residue)****

Travail simplifié du sol

Tout type de travail du sol permettant de maintenir 15 à 30% de résidus à la surface du sol après semis. Ce terme se rapproche des *Techniques culturales simplifiées* (TCS) utilisées en France pour désigner une agriculture sans labour (ou techniques sans labour, TSL) mais avec maintien d'un travail superficiel du sol (déchaumage ou scarifiage) sur l'ensemble de la parcelle cultivée qui enfouit une grande partie des résidus de récolte.

□ ***Conservation tillage (> 30% residue)****

Pratiques conservatoires des sols

Tout type de mode de travail du sol et/ou de semis permettant de maintenir au moins 30% de résidus à la surface du sol après semis. On distingue trois principales modalités :

• ***No-till / strip-till*** : pas de travail du sol à l'exception de la ligne/bande de semis pouvant représenter jusqu'à un tiers de l'interligne. Autres termes employés : *direct seeding, slot planting, zero-till, row-till* et *slot-till*.

• ***Ridge-till*** : Culture sur billons. Les résidus sont laissés en surface entre les billons. Pas de résidus sur les billons.

• ***Mulch-till*** : travail superficiel du sol permettant de sectionner les racines adventices en surfaces et d'enfouir moins de 15% des résidus de récolte à chaque passage.

□ ***Conservation Agriculture*****

Agriculture de conservation

Cette expression, promue par la FAO depuis 2001, désigne l'ensemble des systèmes de culture respectant les trois principes suivants: perturbation minimale du sol, couverture maximale du sol et pratique de rotations culturales.

□ ***Direct seeding mulch-based cropping systems (DMC)******

Systèmes de culture de semis direct sur couverture végétale (SCV)

Lancé par le CIRAD en 1999, ce terme désigne les systèmes de culture respectant les trois principes suivants: non-travail du sol (zéro-labour), couverture permanente du sol et pratique de rotations culturales diversifiées incluant l'utilisation de plantes de couverture en association et/ou relais des cultures principales.

* *Conservation Technology Information Center* (<http://www.ctic.purdue.edu/resourcedisplay/322/>)

** FAO, 2007

*** Séguy, 2001

La limitation des perturbations physiques et la présence de résidus en surface protègent les sols de l'érosion éolienne et hydrique (Lal et al., 2007), limitent les pertes en MOS (Six et al., 2002), et favorisent l'activité biologique des sols (Kladivko, 2001; Kaschuk et al., 2009). Ces pratiques de conservation des sols ont connu une large et rapide diffusion dans les grandes agricultures mécanisées car elles ont montré par ailleurs qu'elles pouvaient permettre de diminuer les coûts de production (usure et entretien du matériel, consommation en carburant, temps de travaux) sans diminuer pour autant le rendement des cultures (Dixon, 2003 ; Triplett and Dick, 2008).

La réduction/suppression du travail du sol dans l'itinéraire technique peut cependant engendrer de nouvelles contraintes agronomiques et environnementales : diminution progressive de l'espace poral (Guérif, 1994), diminution de l'efficacité des amendements, notamment phosphatés (Fageria and Baligar, 2008), augmentation possible des problèmes liés aux pathogènes fongiques (Kirkegaard et al., 2011) et/ou de prédation des cultures (Lestrelin et al. 2012) liés à la présence de résidus en surface, utilisation croissante d'herbicides pour le contrôle des adventices (Teasdale et al., 2007), résistance accrue aux herbicides (Derksen et al., 2002). Ces contraintes soulignent la nécessité de considérer l'ensemble du système de culture et de production, et non uniquement le mode de préparation parcellaire, dans la conception de systèmes agricoles plus performants d'un point de vue agronomique, économique et environnemental.

L'agriculture de conservation (AdC) se présente à ce titre comme un système agricole alternatif, et non comme une technique de préparation parcellaire alternative, affichant dans ses principes fondateurs la pratique de rotations culturales diversifiées, en sus de la suppression du travail du sol et du maintien d'une quantité maximale de résidus de culture à la surface du sol (Encart I.4). Le contrôle des adventices et le maintien de la fertilité sont les deux principaux facteurs limitant la production agricole en agriculture pluviale (Mazoyer et Routard, 2002). La pratique de rotations culturales et/ou d'associations culturales est de fait un élément important pour une gestion plus intégrée des adventices et des maladies (Swanton and murphy, 1996), mais également pour le maintien de la fertilité des sols puisqu'elle permet d'améliorer la séquestration du carbone dans les sols (West and Post, 2002 ; Bullock, 2008).

Encart I.5 Objectifs fixés aux systèmes agricoles innovants

(d'après De Schutter, 2011)

1) Augmenter la production agricole

Afin de garantir une nourriture disponible pour tous et répondre aux besoins futurs (selon l'estimation la plus courante : besoin d'augmenter globalement la production agricole de 70% d'ici à 2050)

2) Augmenter les revenus des (petits) exploitants

La faim est aujourd'hui principalement liée à la pauvreté ; le meilleur moyen de la combattre est d'augmenter les revenus des plus pauvres, notamment par l'agriculture, une augmentation du PIB en provenance de ce secteur étant deux fois plus efficace pour réduire la pauvreté qu'une augmentation imputable à d'autres secteurs.

3) Préserver les ressources supportant les activités agricoles

Les pratiques agricoles doivent notamment contribuer d'une part à préserver la biodiversité, les ressources en eau, et la qualité des sols et de l'eau ; et d'autre part à lutter contre le réchauffement climatique et les éléments extrêmes (sécheresses, inondations) qui lui sont associées.

Dans cette continuité, les systèmes de culture de semis direct sur couverture végétale (SCV, Encart I.4) prônent l'intégration de plantes de couverture, seules ou en mélange, associées ou en relais des cultures principales, afin d'optimiser les interactions biotiques (symbioses, antagonismes, allélopathie, action des auxiliaires etc.) et de mieux valoriser les services écosystémiques (contrôle biologique, recyclage, épuration etc.) qui sont liées à cette biodiversité végétale (Séguy et al., 2001 et 2008).

L'agriculture de conservation est aujourd'hui pratiquée sur plus de 115 Mha (Derpsch et al., 2010). Derrière cette terminologie se cache cependant une grande diversité de pratiques qui intègrent rarement de façon simultanée et/ou continue les trois principes évoqués : pratiques de labours réguliers (Abrol et al., 2005) ou opportunistes (Kirkegaard et al., 2011), faible voir absence de diversification culturale (Kirkegaard et al., 2011), quantités variables de résidus restitués à la surface du sol (Blanco-Canqui et Lal, 2009), voir pratiques de brûlis avant semis (Séguy et al. 2008).

Alors que les performances agronomiques et écologiques des systèmes conduits en agriculture de conservation sont largement fonction de la capacité des systèmes à produire et maintenir à la surface du sol une couverture végétale (*mulch*), très peu d'études comparatives proposent une caractérisation des biomasses produites et restituées, et de la couverture du sol correspondante (Naudin, 2012). La diversité des itinéraires pratiqués et le manque de précisions sur les restitutions végétales rendent de fait souvent difficiles les analyses comparatives entre systèmes agricoles et sites.

2. L'évaluation de systèmes agricoles

2.1 Les indicateurs de la qualité des sols

De Schutter, rapporteur spécial des nations unies sur le droit à l'alimentation, a récemment (2011) rappelé les trois principaux objectifs assignés aux systèmes agricoles innovants : augmenter (1) la production et (2) les revenus agricoles, tout en (3) préservant les ressources supportant les activités agricoles (Encart I.5).

Evaluer l'impact de pratiques sur la productivité ou les revenus agricoles est relativement aisé. Evaluer l'impact de pratiques sur les ressources supportant les activités agricoles, et notamment sur les propriétés et le fonctionnement des sols, l'est beaucoup moins et nécessite une caractérisation indirecte à l'aide d'indicateurs définis par Gras et al. (1989) comme « *des variables fournissant des renseignements sur d'autres variables plus difficiles d'accès* ». Mitchell et al. (1995) rappellent par ailleurs que la finalité d'un indicateur est de « *fournir des informations au sujet d'un système complexe en vue de faciliter sa compréhension aux utilisateurs de sorte qu'ils puissent prendre des décisions appropriées* ».

On utilise des indicateurs de la qualité des sols pour évaluer l'état de fonctionnement d'un sol (Andrews and Carrol, 2001). Selon Doran and Parkin (1996), ces indicateurs doivent : (i) être bien corrélés avec les processus écosystémiques, (ii) intégrer les propriétés et les processus physiques, chimiques et biologiques des sols, (iii) être accessible [*physiquement et financièrement*] à un grand nombre d'utilisateurs, (iv) être sensible aux variations des modes d'usage, (v) être facile à mettre en œuvre, (vi) être immédiatement compréhensible et (vii) être des composantes de bases de données référentielles existantes.

Nous revenons dans ce premier chapitre (§2.1) sur les indicateurs permettant de mesurer/ quantifier l'impact des systèmes agricoles sur la productivité, la profitabilité et la qualité des sols. Nous étayons dans les chapitres suivants les raisons justifiant l'intérêt particulier porté à la composante microbienne des sols (§2.2) et à la spectroscopie dans le proche infrarouge (§2.3).

2.1.1. Les indicateurs d'impact sur la productivité des sols

Le rendement en grains, exprimé en kg de grains secs par unité de surface et calculé pour un cycle cultural ou un ensemble de cycles culturaux (rendement grain cumulé), reste l'indicateur le plus fréquemment utilisé pour comparer, à l'échelle de la parcelle cultivée, les performances de systèmes agricoles en terme de productivité (Doré et al., 2006).

La biomasse totale aérienne produite (exprimée en kg de matières sèches par unité de surface) est un autre indicateur de productivité des sols, qui est cependant plus généralement

utilisé pour évaluer les performances des systèmes fourragers que celles des systèmes de culture. Les rendements en paille peuvent être estimés à partir des rendements grain par le biais de coefficients culturaux tels que les indexes de récolte (*harvest index*) ou les ratios grains/pailles (*grain/straw ratio* ; Huehn, 1993). Ces coefficients sont cependant fonctions des espèces/cultivars utilisés et ne couvrent pas l'ensemble de la biodiversité végétale cultivée (notamment variétés locales et plantes de couverture). Par ailleurs, ces coefficients, qui corrélaient la production de paille à la production de grains, ne sont pas utilisables dans les systèmes de cultures associées dans lesquelles les cultures secondaires sont exploitées (ou non) en frais (par exemple, comme fourrage pour l'élevage) et les grains non récoltés. Le suivi des biomasses aériennes produites permet de mieux évaluer la productivité totale du système. Dans un contexte d'accroissement constant de la valeur économique des résidus de récolte (valeur fourragère, énergétique, matériau de base etc. ; Lal, 2005), la biomasse aérienne produite est également un indicateur de performance économique des systèmes puisqu'elle renseigne sur le potentiel de diversification des revenus des exploitations.

2.1.2. Indicateurs d'impact sur les revenus agricoles

A l'échelle de la parcelle, l'impact des pratiques sur les revenus agricoles se mesure le plus souvent par la marge brute (exprimée en USD par unité de surface) qui correspond à la valeur de la production brute agricole (estimée au prix du marché local) moins les charges opérationnelles également appelées consommations intermédiaires ou frais variables (Penot et al., 2010). Pour comparer les systèmes entre eux, on considère classiquement que l'ensemble du travail se fait avec de la main d'œuvre familiale (ce qui en réalité peut varier selon les lieux et les systèmes de production), qu'il n'y a pas de frais financiers (pas d'emprunts pour la culture), de charges de structure (impôts), ni de subventions, ce qui fait que la marge brute correspond également à la marge nette et la valeur ajoutée brute (Penot et al., 2010).

Le retour sur investissement, correspondant ici au nombre de campagnes agricoles nécessaires pour rembourser l'investissement initial, est un indicateur du risque économique pris à la fois par l'agriculteur (risque d'endettement) et par le bailleur (risque de non recouvrement du prêt).

En petite agriculture familiale, l'un des principaux enjeux pour les ménages agricoles est de valoriser au mieux des ressources (terre, capital, main d'œuvre) limitées (Garrity, 1996). Dans un contexte de choix multiples pour l'affectation de la main d'œuvre, la connaissance de l'ensemble des activités et des opportunités offertes aux familles, et le suivi des besoins en main d'œuvre spécifiques pour chaque activité agricole (exprimés en

homme/jour par unité de surface pour les cultures ou homme/jour par atelier pour les activités d'élevage) est nécessaire pour calculer la productivité du travail (exprimée en USD par jour travaillé) et/ou le coût d'opportunité du travail (gain financier comparatif d'une activité par rapport à une autre ; Penot et al., 2010).

2.1.3. Indicateurs d'impact sur les propriétés des sols

Du fait de sa complexité, le sol est généralement appréhendé de façon compartimentée en distinguant des caractéristiques physiques, chimiques et biologiques (Ruellan et Dosso, 1993), même si ces différentes propriétés sont fortement imbriquées *in vivo* (Balesdent et al., 2000 ; Kladivko, 2001 ; Six et al., 2002).

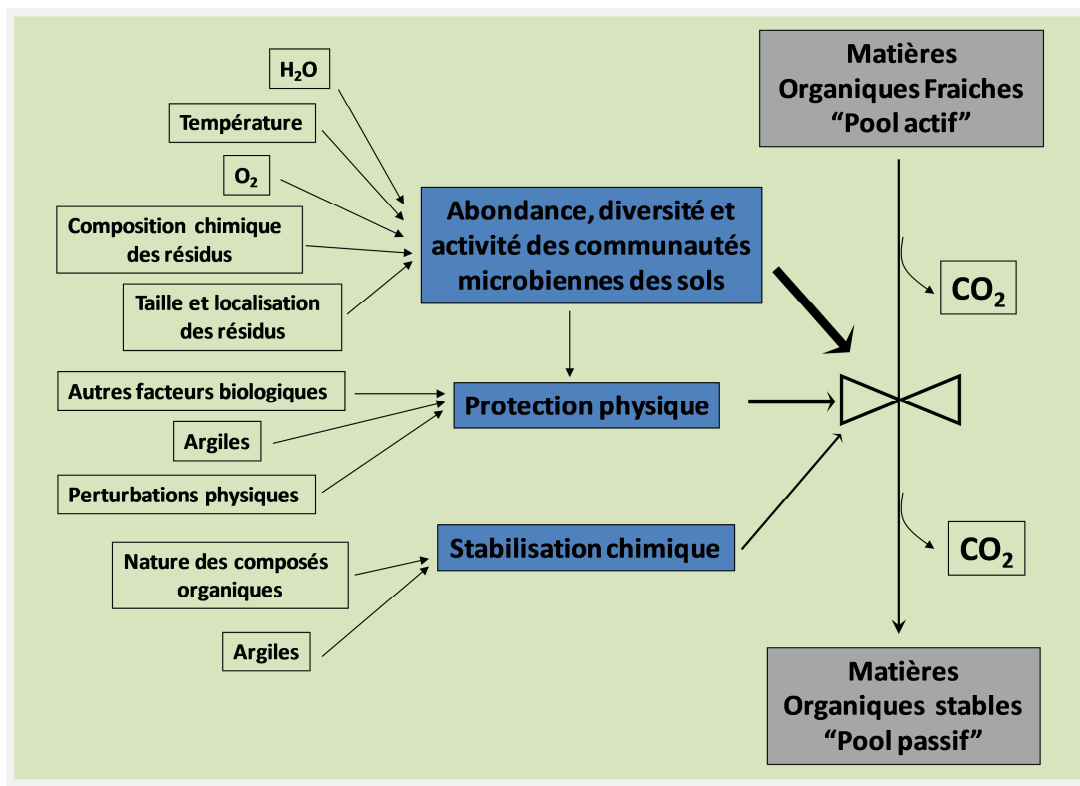
De fait, évaluer l'impact d'un système agricole sur la fertilité d'un sol nécessite d'évaluer conjointement les effets de ce système sur les différentes propriétés du sol (Velasquez et al., 2005). Cette évaluation peut se faire soit par comparaison à une situation antérieure connue (approche diachronique), soit par comparaison à un référent issu de la même chronoséquence (autre système agricole évalué simultanément ou végétation naturelle considérée comme stable ; approche synchronique).

(i) Indicateurs d'impact sur les propriétés physiques des sols

La stabilité structurale est une propriété physique importante des sols (Baize, 2000). La structure du sol correspond à l'arrangement spatial entre les vides et les agrégats du sol (Roger-Estrade et al., 2000), et contribue à la porosité du sol (cf. paragraphe suivant). La structure du sol est particulièrement sensible aux pratiques culturales (Castro Filho et al., 2002) : dans les systèmes labourés, la structure du sol est principalement créée par les opérations de travail du sol tandis que dans les systèmes non travaillés (semis direct) la structure est principalement créée par l'action du climat (en surface dans les régions tempérées) et par des processus biologiques (Vian, 2009).

Les macroagrégats du sol (agrégats supérieurs à 250 μm) participent à la résistance des sols à l'érosion (Lal, 2002) et à la protection du carbone du sol contre l'oxydation microbienne (Balesdent et al., 2000 ; Six et al., 2002 ; Tivet et al., 2013). La stabilité structurale d'un sol correspondant à sa résistance à la déstructuration par l'eau (Castro Filho et al., 2002).

Figure I.1 Paramètres impliqués dans les processus d'humification et de minéralisation des matières organiques des sols (d'après Six et al., 2002 et Sa et al., 2009)



Différents indicateurs permettent d'évaluer la stabilité des agrégats dont le diamètre moyen des particules (*Mean Weight Diameter*, MWD) et l'index de stabilité des agrégats (*Aggregate Stability index*, AS), tous deux basés sur la méthode de tamisage dans l'eau définie par Yoder (1936) et adaptée par la suite par différents auteurs (Kemper and Rosenau, 1986 ; Castro Filho et al., 2002 ; Madari et al., 2005).

La porosité est une propriété physique également importante des sols car c'est elle qui détermine les échanges gazeux entre le sol et l'atmosphère, la circulation de l'eau (Baize, 2000) et les conditions d'oxygénation pour les organismes vivants du sol. Les effets des systèmes agricoles sur la porosité des sols peuvent se mesurer par des tests *in situ* d'infiltration de l'eau, de résistance à la pénétration, ou par la mesure en laboratoire de la réserve utile des sols (Baize, 2000). La densité apparente (exprimée en g.cm⁻³) est également fréquemment utilisée comme indicateur global de l'espace poral du sol (Roger-Estrade et al., 2000).

(ii) Indicateurs d'impact sur les propriétés organiques et chimiques des sols

Les matières organiques du sol (MOS) sont une composante majeure de la fertilité des sols puisqu'elles contribuent au maintien de la structure des sols, au stockage de l'eau et des nutriments, et à l'abondance, diversité et activité des macro- et microorganismes du sol (Craswell et Lefroy, 2001). Pour de nombreux auteurs, le taux de MOS représente le meilleur indicateur synthétique de la fertilité et de la qualité des sols (Reeves, 1997 ; Craswell et Lefroy, 2001 ; Sa et al., 2001 ; Lal, 2002 ; Six et al., 2004). Les teneurs en carbone (C) et azote (N) du sol peuvent se mesurer par analyses directes (combustion sèche ou voies « humides » ; Baize, 2000), ou par estimation indirecte (spectroscopie, modélisation etc.).

En l'absence d'amendements organiques (déjections animales, compost végétaux, déchets recyclés etc.), l'évolution des stocks en MOS dans les agrosystèmes résulte essentiellement de la différence entre l'humification des résidus de culture, i.e. la transformation de matières organiques fraîches (MOF) en composés organiques complexes et stabilisés dans le sol, et la minéralisation des MOS du sol (Hénin, 1945). Les processus d'humification et de minéralisation dépendent d'un grand nombre de facteurs abiotiques (précipitations, températures), anthropiques (diversité, taille et localisation des résidus dans le sol) et biotiques (abondance, diversité et activité des communautés microbiennes du sol ; Figure I.1).

Figure I.2 Classification de la faune et flore du sol selon la taille (d'après Swift et al. 1979)

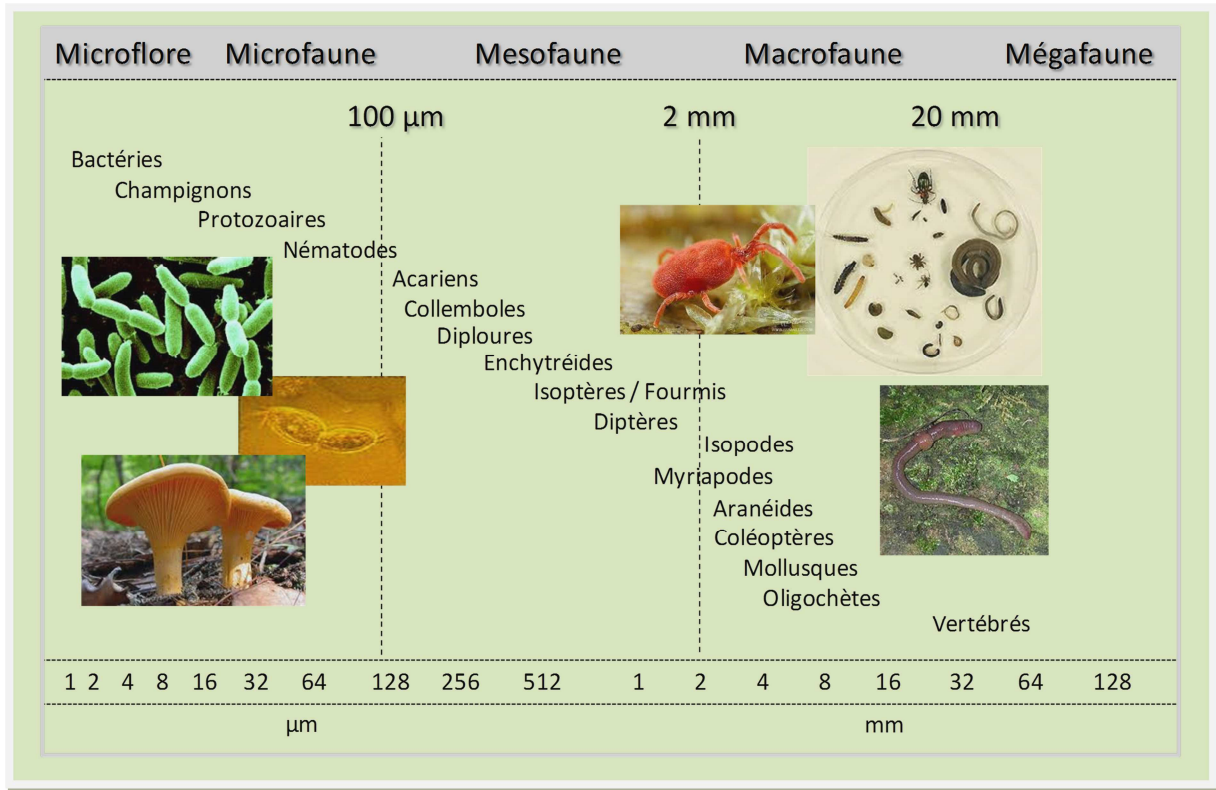
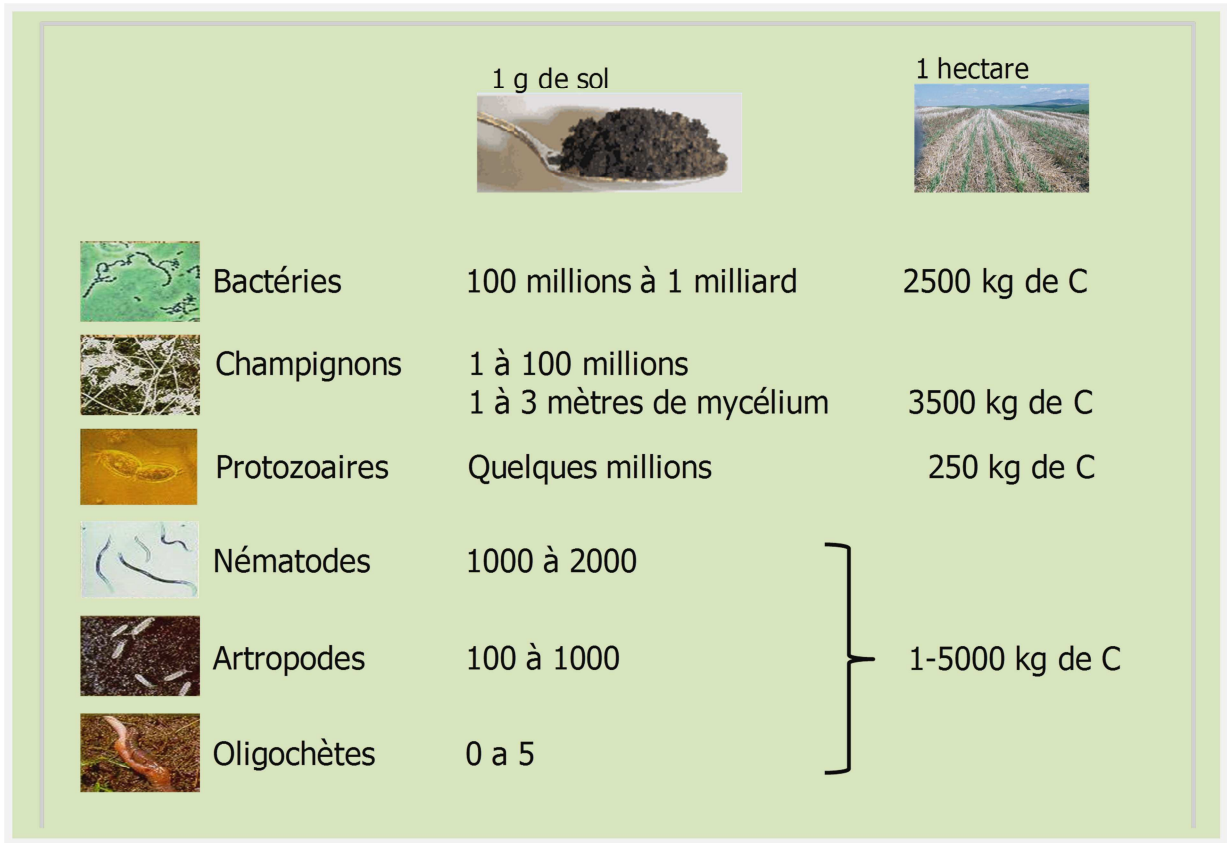


Figure I.3 Abondance relative de la faune et flore du sol (adapté de Blanchart, 2011)



Malgré la multiplicité de ces facteurs, la quantité de biomasse aérienne restituée au sol reste un indicateur simple et relativement facile à mesurer pour évaluer l'impact de systèmes agricoles sur la dynamique des MOS. La qualité biochimique des biomasses, et notamment leur teneur relative en azote, influe également sur la séquestration du carbone (West and Post, 2002). Le rapport entre la teneur en carbone et en azote (C:N) des matériaux végétaux est un indicateur courant de la qualité organique des résidus (Palm et al, 2001). Même si cette qualité varie fortement selon les espèces, les organes végétaux considérés et leur maturité, on observe classiquement des ratios C:N plus faibles (indicateurs d'une qualité supérieure) dans les résidus de légumineuses que dans ceux des graminées (Palm et al, 2001). Le rapport entre les biomasses de légumineuses et de graminées restituées au sol est de fait un indicateur direct de la qualité globale des résidus, et un indicateur indirect de l'effet de systèmes agricoles sur les propriétés chimiques des sols.

Le pH caractérise l'environnement chimique d'un sol, et contribue fortement au choix des cultures assolées (Blaise, 2000). C'est également un indicateur des processus biochimiques intervenant dans le sol et des déficiences et/ou toxicités potentielles des sols (Hazelton and Murphy, 2007). La solubilité et la disponibilité d'un grand nombre d'éléments nutritifs (azote, phosphore, potassium, calcium, soufre etc.) sont par exemple affectées en deçà d'un pH eau de 5 (Hazelton and Murphy, 2007). L'impact des systèmes agricoles sur le pH conditionne la productivité du sol et les possibilités de diversification culturale.

La capacité d'échange cationique (CEC) est la capacité du sol à retenir et échanger les cations (Blaise, 2000). Elle permet de tamponner les changements de pH, de disponibilité en nutriments, de teneurs en Calcium, et de structure du sol (Hazelton and Murphy, 2007). Une faible CEC ($< 12 \text{ cmol}^+ \text{ kg}^{-1}$; Hazelton and Murphy, 2007) indique une faible capacité d'un sol à s'adapter à des modifications chimiques de son environnement (changements de modes d'usage, de modalités de fertilisation etc.).

(iii) Indicateurs d'impact sur les propriétés biologiques des sols

La biocénose tellurique correspond à l'ensemble des organismes (faune et flore) vivants dans le sol (Lavelle, 1997). Ces organismes sont le plus souvent classés et regroupés selon leur taille (Figure I.2). Au-delà de l'aspect purement patrimonial (maintien de la diversité du vivant), la biocénose représente une source importante de carbone dans les sols (Figure I.3). Elle assure par ailleurs un grand nombre de fonctions (Figure I.4) et de services écosystémiques incluant des services d'approvisionnement (production de nourriture, bois, fibre, énergie etc.) et de régulation (climat, nutriments, pollution, pathogènes etc. ; Figure I.5).

Figure I.4 Les fonctions biologiques de la faune et flore du sol (d'après Blanchart, 2011)

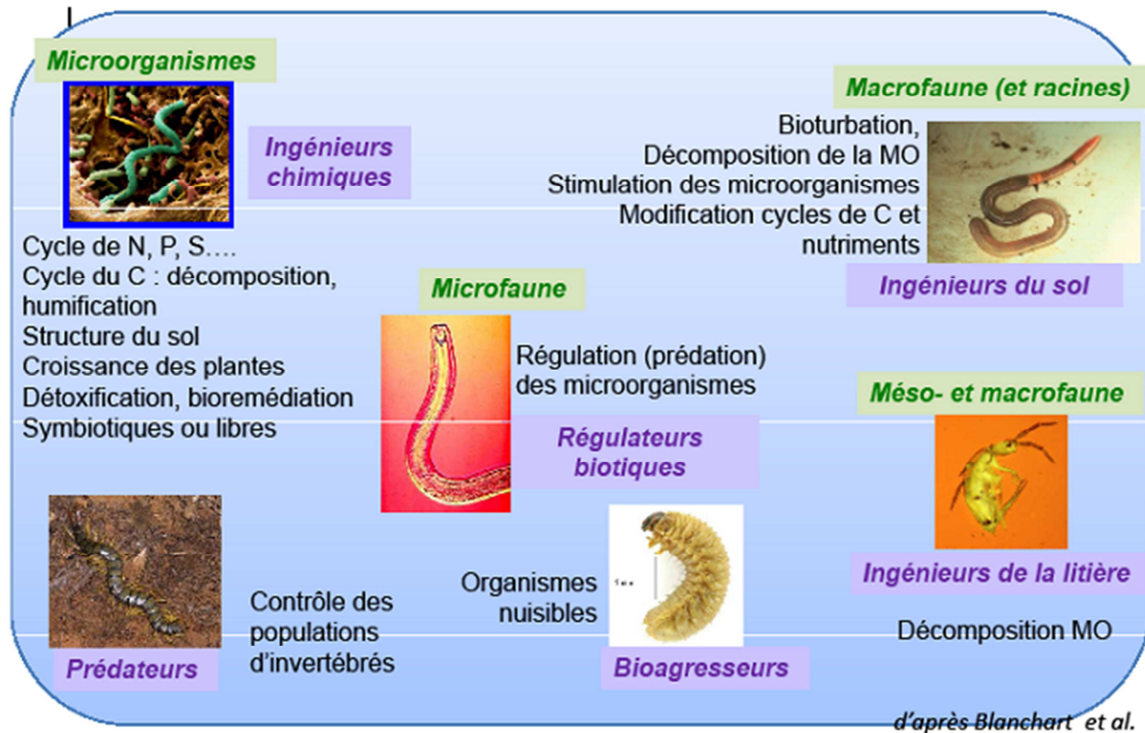
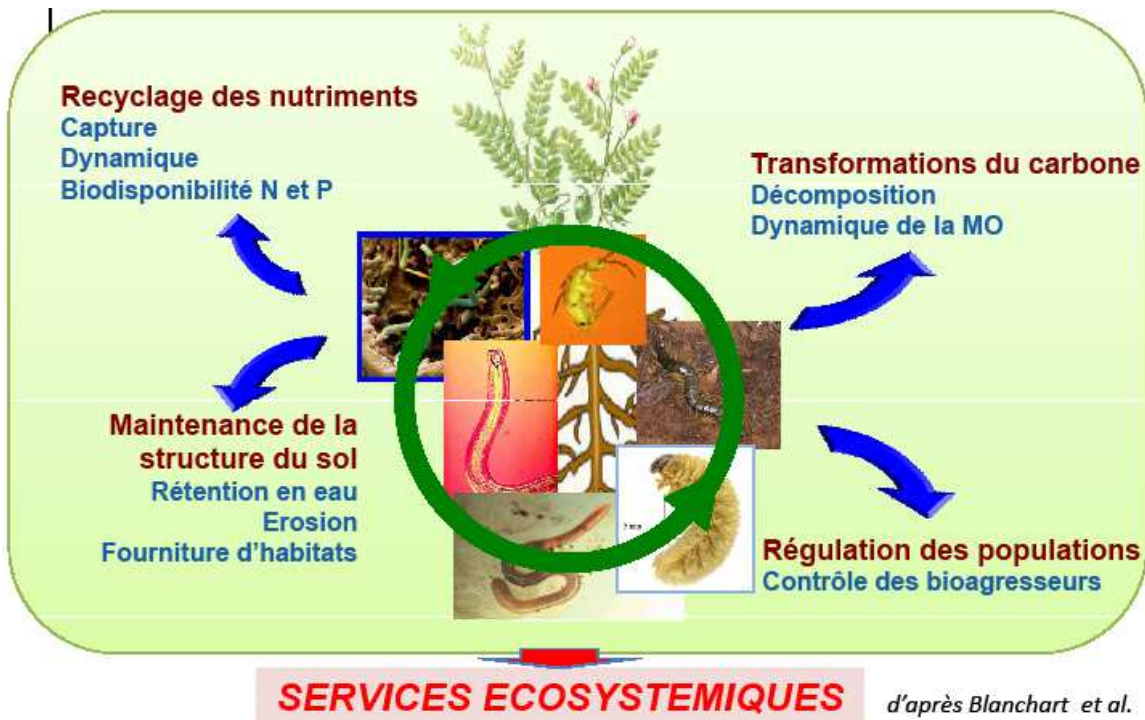


Figure I.5 Les services écosystémiques liés à l'activité de la faune et flore du sol (d'après Blanchart, 2011)



Ces organismes sont parfois également classés par groupes fonctionnels (Figure I.4), mais la diversité des organismes du sol et leurs rôles fonctionnels restent à ce jour largement méconnue (Nannipieri et al., 2003 ; Zak et al., 2003).

Les organismes du sol se caractérisent par leur abondance, leur diversité et leur activité (Torsvik, 2002 ; Kandeler, 2007). Les mesures (directes ou indirectes) de densités ou de biomasses permettent d'évaluer l'abondance de la communauté totale ou de groupes spécifiques. Les indices de diversité (richesse, diversité, équitabilité) qui sont basés sur la définition et la mesure d'unités taxonomiques opérationnelles (OTU), permettent de décrire la diversité au sein de ces groupes et l'impact des modes d'usage sur cette diversité.

2.2 Communautés microbiennes du sol : importance, approches et outils analytiques

Parmi les composantes biologiques des sols, les microorganismes telluriques jouent un rôle majeur dans la durabilité de la production agricole, car ils sont responsables d'un grand nombre de fonctions régulatrices des cycles biogéochimiques (Figure I.5), telles que le turnover des MOS (minéralisation, humification), le recyclage des nutriments et leur transformation en formes assimilables par les plantes, la solubilisation des éléments de la roche mère, ou encore l'élaboration et la stabilisation de la structure des sols (Dick, 1992 ; Kladivko, 2001 ; Six et al., 2002). Ils assurent également un grand nombre de fonctions épuratrices, telles que le contrôle des pollutions et des pathogènes (Kladivko, 2001 ; Paul, 2007).

Malgré le rôle central des microorganismes indigènes dans le maintien de la fertilité et de la qualité des sols, les communautés microbiennes (i.e. groupes de microorganismes à un endroit et un temps donné) sont encore mal connues et souvent considérées comme une boîte noire en termes de diversité et de fonctionnalité (Pascault, 2010). Cet état de fait est largement lié à leur petite taille (<0,1 mm), à leur faible accessibilité au sein d'une matrice sol complexe et fortement hétérogène (Ranjard et Richaume, 2001), et à la difficulté de les cultiver hors de leur environnement naturel (>95% des microorganismes ne sont pas cultivables ; Torsvik, 2002).

Par ailleurs, leur distribution, leur physiologie et leur activité varient fortement dans l'espace et dans le temps (Ranjard et Richaume, 2001 ; Nannipieri et al., 2003 ; Zak et al., 2003). Enfin, leur forte abondance (plus d'un milliard d'individus par gramme de sol, Figure I.3), leur grande diversité (10^4 à 10^6 espèces différentes g^{-1} de sol ; Torsvik, 2002), et la multiplicité de leurs interactions constituent des contraintes méthodologiques majeures (comment étudier et traiter une telle masse d'information ?).

Encart I.6 Méthodes physiologiques et biochimiques pour étudier les microorganismes du sol et leur fonction (d'après Kandeler, 2007).

1. Biomasse microbienne

- Méthodes de fumigation et d'extraction (MFE) au chloroforme
- Respirations induite par ajout de substrats carbonés (SIR)
- Composition isotopique des biomasses microbiennes

2. Molécules « marqueurs » pour la mesure de la biomasse et de la structure des communautés microbiennes

- L'ATP comme outil de mesure de la biomasse microbienne active
- Les acides gras et autres composés des membranes microbiennes
- Les quinones respiratoires comme outil de mesure de la diversité structurale
- L'ergosterol comme outil de mesure de la biomasse fongique
- Les lipopolysaccharides, glycoprotéines, et les parois cellulaires
- Le taux de croissance des molécules signal

3. Analyses physiologiques

- Les études sur milieu de culture
- L'isolation et la caractérisation d'organismes spécifiques
- Décomposition et respiration des matières organiques du sol
- Minéralisation de l'azote

4. Activités et localisation des enzymes

- Méthodes spectrophotométriques
- Méthodes de fluorescence
- Techniques d'imagerie pour la localisation des enzymes

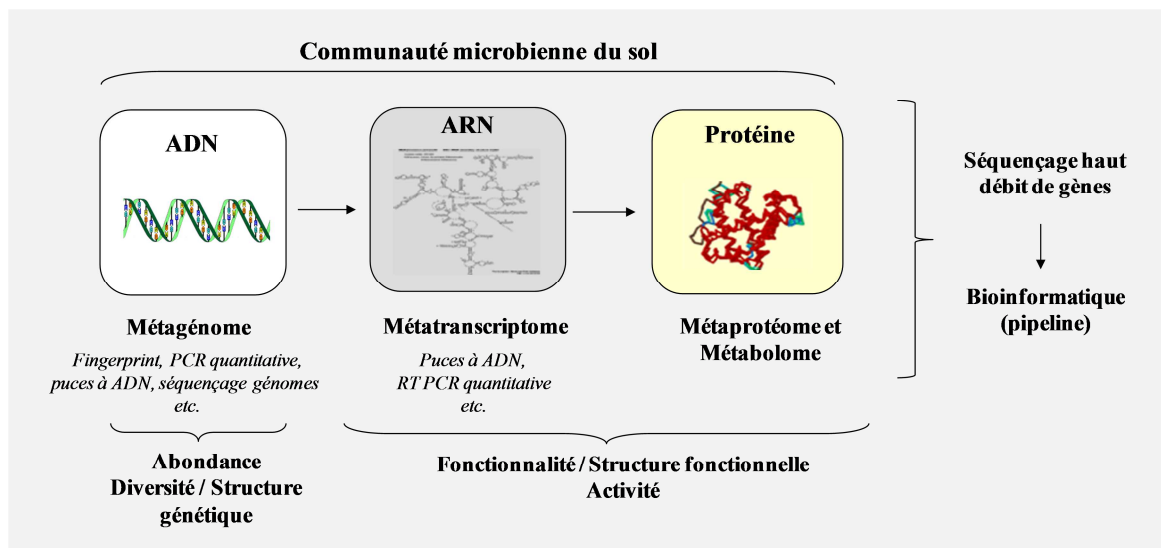
5. Diversité fonctionnelle

- Plaques BIOLOG (système d'identification bactérienne)
- Profils physiologiques à l'échelle des communautés (CLPP)

Nous proposons dans l'encart I.6 une revue des méthodes physiologiques et biochimiques les plus utilisées pour étudier les organismes du sol et leur fonction.

Le développement récent d'outils moléculaires liés au développement d'outils bio-informatiques (extraction d'ADN de sol, séquençage massif, génotypage, méta-analyses *in silico*, Figure I.6), permet par ailleurs aujourd'hui une analyse robuste et rapide de l'abondance et de la diversité totale des microorganismes du sol, et ainsi une évaluation plus exhaustive de l'impact écologique des modes d'usage sur les communautés microbiennes du sol (Roesch et al., 2007). Ces approches sont basées sur le principe d'extraire, non plus des organismes entiers et vivants, mais des marqueurs de ces organismes (fragments d'ADN spécifiques, ARN, protéines) dont la quantification et l'analyse renseignent sur l'abondance et la diversité des communautés microbiennes, mais également sur leurs activités et fonctions (Maron et al., 2011). Couplés à d'autres méthodes et outils de mesure des processus biochimiques se déroulant dans les sols, ces nouveaux outils moléculaires permettent de mieux caractériser les communautés microbiennes *in situ* et d'aborder les liens entre la diversité microbienne et le fonctionnement biologique des sols (Maron et al., 2011).

Figure I.6 Approches moléculaires pour l'étude des communautés microbiennes du sol (d'après Maron et al. 2007 et 2011).

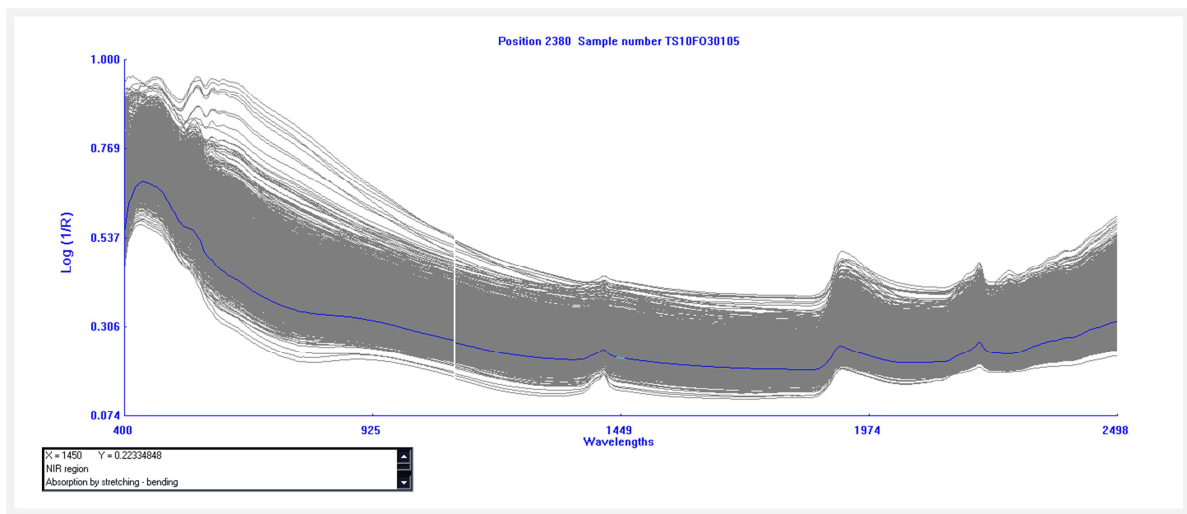


2.3 La spectroscopie de réflectance dans le proche infra-rouge (NIRS) comme outil d'évaluation de pratiques agricoles

Pour évaluer l'impact de modes d'usage sur la qualité des sols, il est nécessaire d'évaluer conjointement l'impact de ces modes d'usage sur les propriétés physiques, chimiques et biologiques des sols, à l'aide d'outils et techniques sensibles et fiables (Velasquez et al., 2005). L'analyse régulière des modifications de la qualité des sols est limitée par le temps et le coût des analyses de sol en laboratoire. Il y a donc un besoin de développer des outils synthétiques, fiables, reproductibles, et peu coûteux en temps et en consommables, pour évaluer l'impact de pratiques agricoles sur la qualité des sols.

La spectroscopie de réflectance dans le proche infrarouge, généralement appelée NIRS (*Near Infrared Reflectance Spectroscopy*), est une méthode physique non destructive permettant d'obtenir pour chaque échantillon analysé, un spectre unique reflétant toutes les liaisons organiques entre les atomes de C, N, O, H, P et S. Ces liaisons organiques possèdent des fréquences de vibrations spécifiques qui absorbent les radiations dans la région spectrale du visible (400 - 800 nm) et du proche infrarouge (800 – 2500 nm). La NIRS utilise ce principe pour obtenir les informations sur le nombre et la nature des liaisons organiques du constituant analysé. L'échantillon à analyser est illuminé par une source de lumière de longueur d'onde donnée dans la région du proche infrarouge et le spectrophotomètre mesure la lumière réfléchie (Figure I.7).

Figure I.7 Profils de spectres bruts de sols réfléchis dans le proche infra-rouge (Lam, *non publiés*)



Le spectre recueilli est complexe, les bandes d'absorption des différentes liaisons chimiques se chevauchant. L'interprétation directe du spectre est de fait difficile et son analyse nécessite l'utilisation d'outils statistiques multivariés (Martens and Naes, 1989), qui permettent d'établir des relations prédictives entre spectres infrarouges et données analytiques de référence. Il est alors possible pour une catégorie donnée d'objets de construire des équations de calibration.

Après avoir largement été utilisée dans le secteur agro-alimentaire pour évaluer par exemple la teneur en protéine des céréales, ou la teneur en matière grasse du lait (Williams and Norris 1987), de nouveaux champs d'application de la NIRS ont vu le jour depuis une dizaine d'années, en particulier dans les sciences du sol (Chang et al., 2001; Stenberg et al. 2010). Ainsi, la NIRS est plus en plus utilisée comme méthode alternative pour évaluer les propriétés chimiques et physiques des sols comme la teneur en carbone organique, azote, phosphore, carbonate de calcium, mais aussi l'humidité, la densité apparente, et les activités biologiques des sols (Chang et al. 2001; Sheperd and Walsh, 2002; Cozzolino and Moron 2003, Velasquez et al. 2005; Cecillon et al., 2008; Moreira et al., 2009; Reeves, 2010; Stenberg et al. 2010, Genot et al. 2011). La qualité des prédictions NIRS peut cependant varier avec les caractéristiques des sols (taille des particules, couleur, humidité résiduelle etc.) et les méthodes utilisées pour la calibration (Reeves, 2010). A ce jour, la NIRS reste peu exploitée comme indicateur synthétique de la qualité des sols, et *in fine*, comme indicateur synthétique de durabilité des systèmes agricoles.

Figure I.8 Localisation de la plaine des Jarres, province de Xieng Khouang, Laos

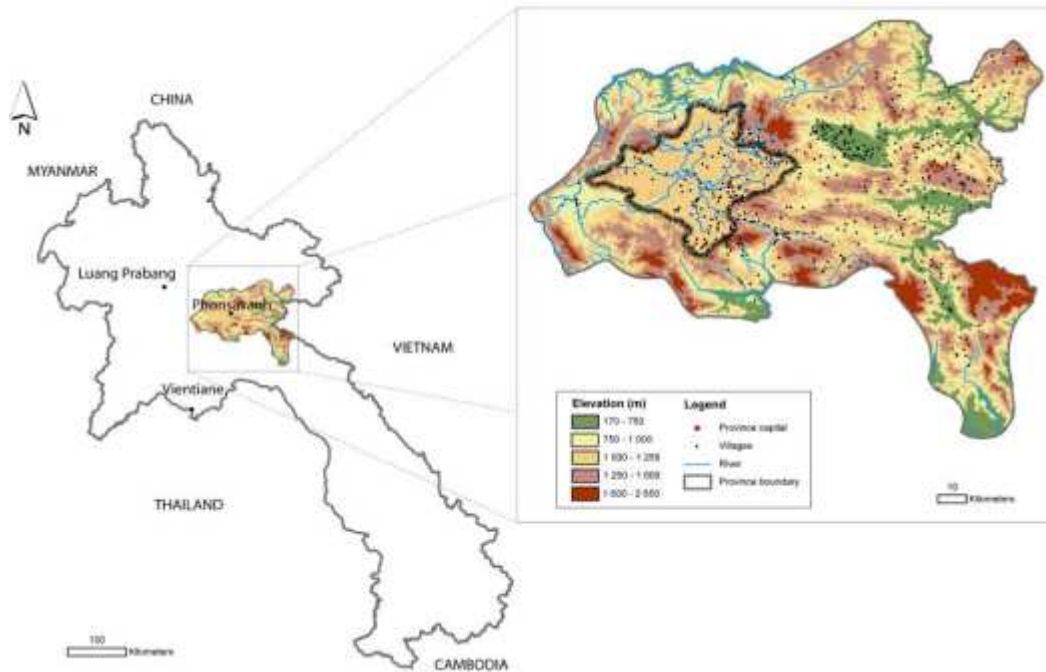
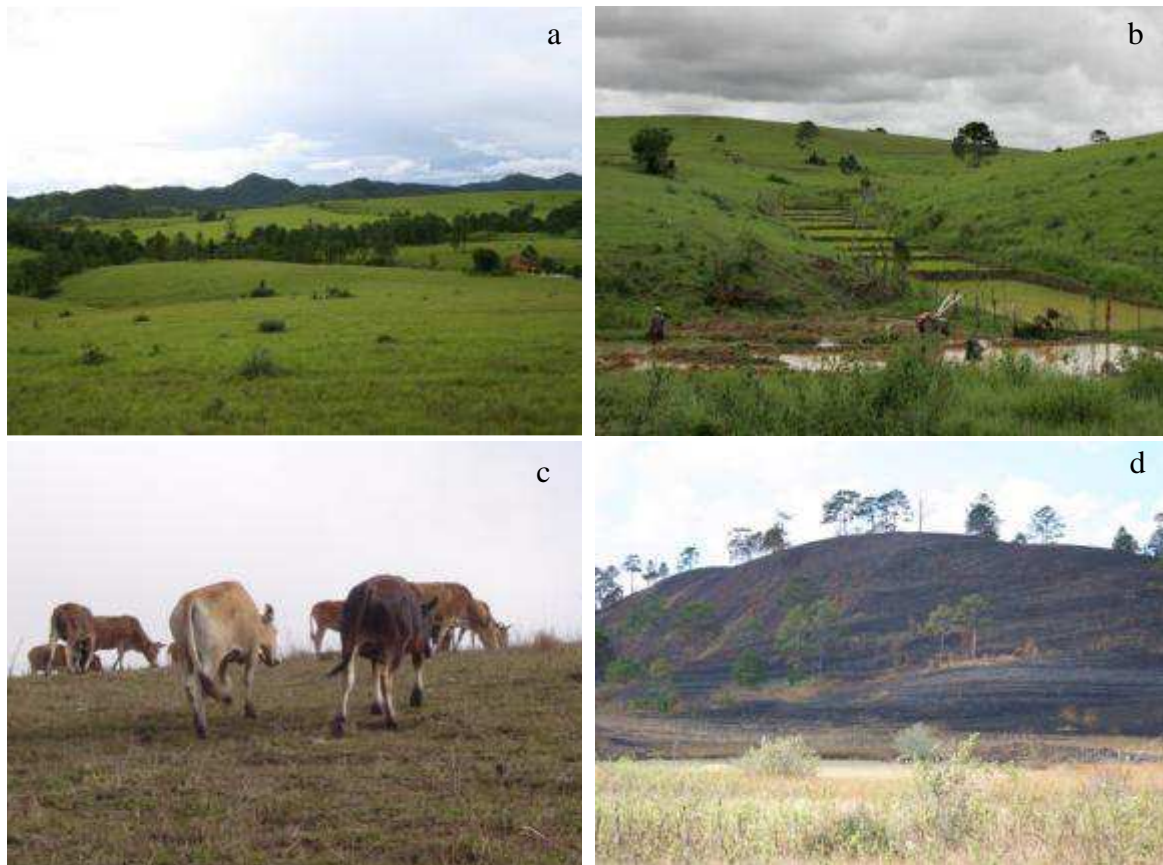


Figure I.9. Paysages caractéristiques de la Plaine des Jarres : a) végétation dominante de graminées pérennes et de pins sur les parties sommitales, b) aménagement de casiers rizicoles sur les bas de collines, c) élevage extensif de bovins et de bubalins et d) brûlis comme mode traditionnel de régénération du pâturage (crédits photos : a) b) et d) Tivet, 2008 ; c) Lienhard, 2006)



3. Cas d'étude : la plaine des Jarres au Laos

3.1 Principales caractéristiques et dynamiques agraires

La Plaine des Jarres est un vaste territoire de savane de près de 80.000 ha, localisé dans le nord-est du Laos (Lat. 19°3'N, Long. 102°9'E), province de Xieng Khouang (Figure I.8). La végétation naturelle se compose de graminées pérennes (principalement *Themeda triandra*, *Cymbopogon nardus*, et *Hyparrhenia sp.*), et de pins (principalement *Pinus merkusii*) que l'on retrouve sur les parties sommitales (Hacker et al, 1998 ; Figure I.9a). Le relief est plat à faiblement vallonné, et situé à une élévation comprise entre 1000 et 1200 m au-dessus du niveau de la mer. Le climat est tropical, avec une saison pluvieuse et chaude de 6 mois (Avril à Septembre) et une saison sèche de 6 mois incluant une période froide de 3 mois (Décembre à Février, climat tropical de montagne) (Figure I.10).

Les précipitations annuelles moyennes sont de 1440 mm, avec cependant de fortes variations interannuelles (1000 à 1900 mm). Les sols sont principalement des acrisols (Figure I.11) développés sur schistes, granites et grès.

Les systèmes de production traditionnels sont basés sur la production de riz glutineux en casiers rizicoles aménagés dans les bas-fonds (Figure I.9b) et sur l'élevage extensif de gros ruminants (bovins et bubalins, Figure I.9c) sur les pâturages environnants (Hacker et al, 1998 ; Lienhard et al., 2006), qui sont régulièrement brûlés en saison sèche (Figure I.9d) pour favoriser la repousse d'une herbe plus tendre. La riziculture traditionnelle, basée sur la réalisation de pépinières en début de saison des pluies et le repiquage des plants dans les casiers 40 à 50 jours après semis, est fortement consommatrice en main d'œuvre (170 à 190 h.j. ha⁻¹) et en eau (Chazée, 1998). Les rendements sur la zone sont faibles (2,2 à 3 Mg de grains ha⁻¹ an⁻¹ ; Lienhard et al., 2006) et fortement dépendants de la pluviométrie (systèmes d'irrigation principalement gravitaires) et de la capacité des familles à maintenir des amendements organiques (déjections animales) réguliers. La productivité du travail varie entre 1,2 et 1,5 USD par jour travaillé (Lienhard et al., 2006). Les systèmes d'élevage traditionnels sont extensifs avec près de 80,000 têtes de gros bétail recensés (PAFO, 2009) sur les trois districts (Pek, Phoukout et Paxay) concernés par cette écologie, soit une charge moyenne de 0,2 à 0,3 tête ha⁻¹. La croissance des animaux durant la saison des pluies est faible (160 à 170 g animal⁻¹ jour⁻¹, soit 25 à 30 kg animal⁻¹ saison pluvieuse⁻¹ ; Lienhard et al., 2008) du fait de la faible qualité fourragère des graminées locales.

Figure I.10 Précipitations et températures enregistrées à Phonsavanh, chef-lieu de province (moyenne sur 25 ans, 1982-2007 ; services agricoles de la province de Xieng Khouang)

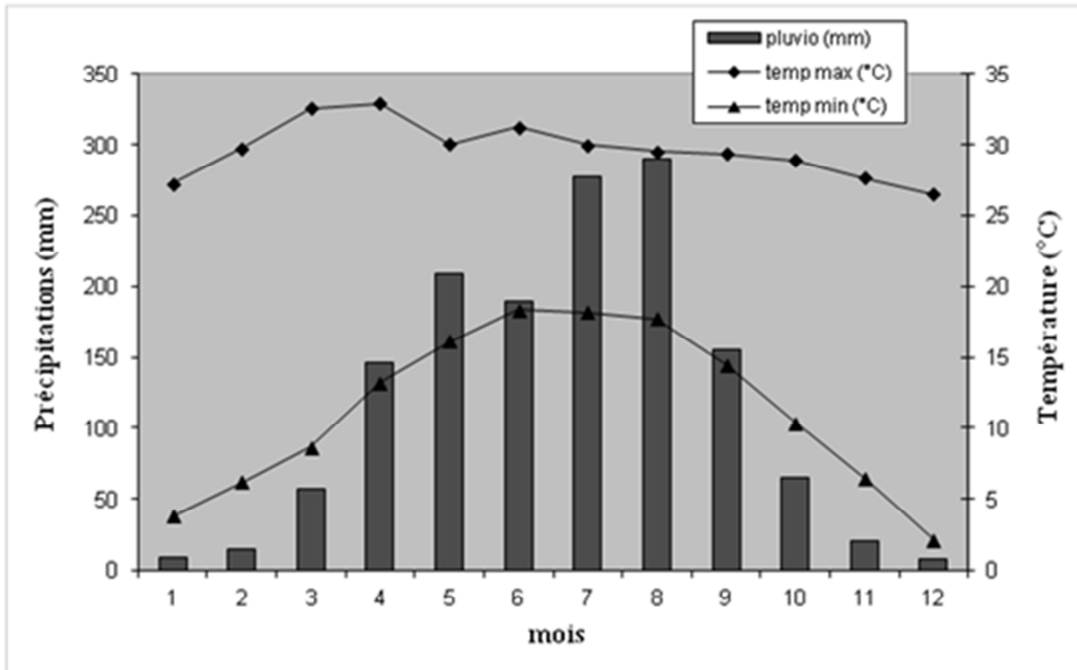
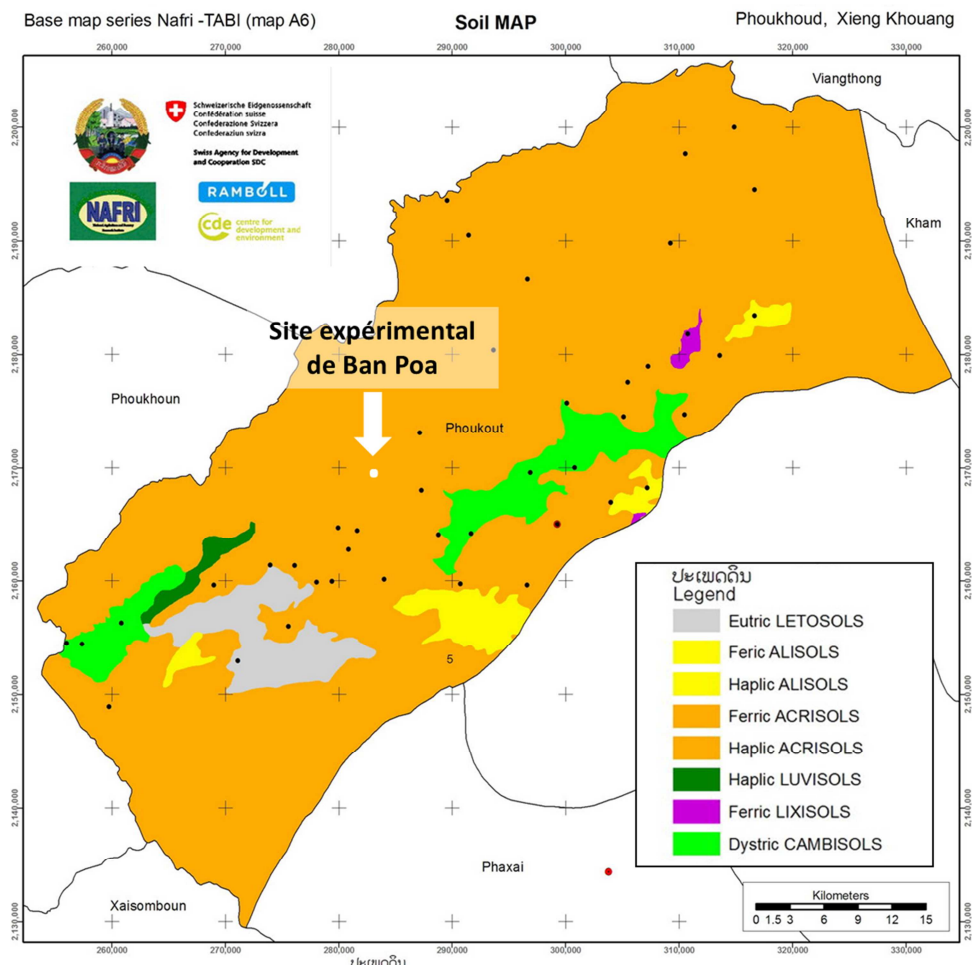


Figure I.11 Carte pédologique du district de Phoukout, province de Xieng Khouang (TABI, 2011)



Les pertes de poids durant la saison sèche et froide sont importantes, et la faible disponibilité en ressources fourragères durant la saison sèche est la principale contrainte pour l'expansion du cheptel (Hacker et al, 1998 ; Lienhard et al., 2006). Le gros élevage joue cependant un rôle majeur dans les systèmes de production traditionnels, à la fois comme source de revenus, d'épargne, de fertilisants, de force de traction (Millar and Photakoun, 2008), cette dernière fonction étant cependant aujourd'hui moins importante suite à l'introduction et la diffusion des motoculteurs. Les revenus des producteurs sont faibles avec des revenus annuels moyens par famille (5-6 membres dont 3 actifs) estimés de 1200 à 2700 USD, dont près de la moitié provenant d'activités non agricoles (petits commerces) ou hors exploitation (vente de la force de travail) (Jobard, 2010).

Les possibilités d'expansion des surfaces agricoles dans les bas-fonds étant aujourd'hui limitées, le développement d'une agriculture pluviale hors aménagements rizicoles est un enjeu majeur pour accroître la production agricole locale et lutter contre la pauvreté. Ce développement est cependant freiné par des contraintes agronomiques fortes: forte acidité (pH eau moyen de 5.0), carences généralisées en macro et microéléments, et saturation aluminique très élevée (> 75%) (Hacker et al, 1998 ; Gibson et al, 1999). Les premiers essais de développement d'une agriculture pluviale ont débuté dans les années 1980 (Tableau I.2). Tous les projets publics de développement agricole qui se sont succédés ont favorisé une approche mécanique (labour subventionné) plutôt que chimique (absence d'amendements organique ou minéral), ce dernier point expliquant principalement le faible développement des surfaces cultivées en pluvial lors de ces 30 dernières années (Kongay et al., 2010). Depuis le début des années 2000, on observe une volonté politique de remplacer les systèmes de production traditionnels par des formes de production moderne et industrialisée, et de promouvoir l'agrobusiness (Bartlett, 2012). Cette volonté politique se traduit localement par l'octroi de grandes concessions à des privés nationaux et étrangers pour le développement de cultures commerciales (maïs, manioc, tabac, Jatropha etc.), ce qui ajoute au défi agronomique et économique (comment améliorer la fertilité de ces sols à moindre coût ?) un nouveau défi social et foncier : comment promouvoir le développement d'une agriculture pluviale familiale (petits producteurs) contre la tendance actuelle d'attribution de large concessions agricoles au secteur privé ?

Tableau I.2. Histoire agraire récente de la Plaine des Jarres

Périodes	Principaux évènements
1965 - 1975	<p>Guerre secrète du Laos. Le <i>Pathet Lao</i>, parti aujourd'hui au pouvoir, est alors engagé au côté du Vietminh dans la lutte contre les américains. Le pays sera intensivement bombardé (3 millions de tonnes de bombes déversées), la province de Xieng Khouang et la Plaine des Jarres étant particulièrement touchées par les bombardements et les combats au sol.</p> <p>Migration massive de la population vers la capitale Vientiane et le Vietnam.</p>
> 1980	<p>Retour des populations sur la zone. Reconstruction des villages. Début des activités de déminage*. Appui soviétique au développement rural: aménagement de casiers rizicoles, développement de l'élevage ovin, essais de production de blé etc.</p>
> 1990	<p>Politique provinciale de déplacement et de regroupement des populations vers des zones focales de développement prioritaire pour répondre aux problèmes d'insécurité (guérilla Hmong anti-communiste) et atteindre les objectifs d'éradication de la défriche brûlis. Double tendance: migrations de l'est vers l'ouest et rapprochement vers les axes routiers.</p> <p>Premiers projets internationaux (FIDA, BM) ou de coopération bilatérale (GTZ) d'appui au développement agricole pour lutter notamment contre la production d'opium, et protéger les investissements hydroélectriques situés en aval (barrage de la Nam Ngum): désenclavement des villages, aménagements de casiers rizicoles, reforestation, appui au développement de l'élevage et à la diversification culturelle etc.</p> <p>Gros investissements dans l'amélioration et l'entretien des routes principales et secondaires: le principal axe Ouest-Est (la N7), traversant la plaine des Jarres et permettant de relier Vientiane et le Vietnam sera élargi et goudronné en 2002. Un grand nombre de routes secondaires seront également ouvertes.</p> <p>Adhésion du Laos à l'ASEAN** en 1997</p>
> 2000	<p>Politique nationale de modernisation de l'agriculture : volonté de remplacer les systèmes de production traditionnels par des formes de production moderne et industrialisée et de promouvoir l'agro-business. Cette volonté se traduit localement par l'octroi de grandes concessions à des privés nationaux et étrangers pour le développement de cultures commerciales: maïs, manioc, tabac, Jatropha etc.</p>
> 2004	<p>Premiers essais de conception de systèmes de culture alternatifs au labour (SCV) sur le district de Pek.</p> <p>En 2007, ces essais seront élargis aux districts de Poukhou et Paxay.</p>
> 2010	<p>Apparition de nouvelles formes contractuelles entre agriculteurs et le secteur privé: <i>contract farming</i> de type 2+3 dans le lequel l'agriculteur fourni sa terre et sa main d'œuvre et le privé fourni les plants, les intrants et le marché (ex : eucalyptus, manioc).</p>

* le sol contient encore aujourd'hui un grand nombre d'objets non explosés (*unexploded ordnances*, UXOs) ; ** *Association of South East Asian Nations*

Figure I.12 Approche expérimentale DDATE (*Diagnosis, Design, Assessment, Training and Extension*) (d'après Husson et al., sous presse)

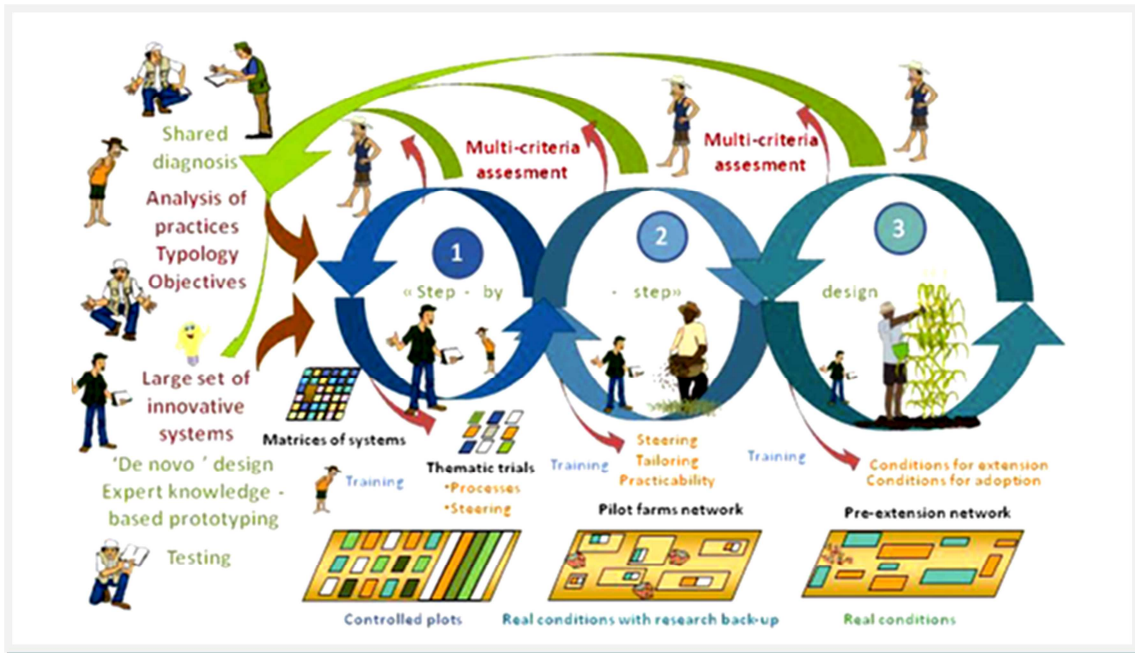
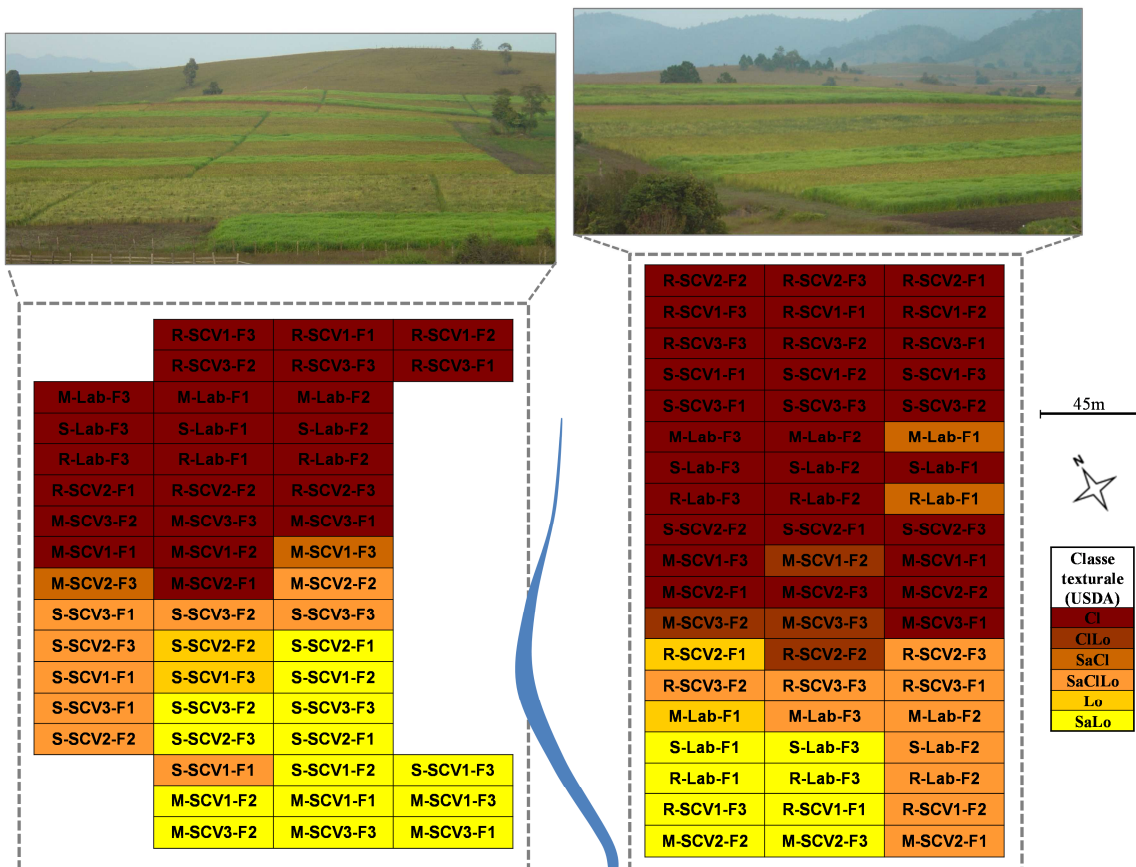


Figure I.13 Site expérimental de Ban Poa (Lat. 19°33'N, Long. 102°59'E). Assolement décrit pour la campagne 2008. Cultures principales (3 modalités) : R, riz ; M, maïs ; S, soja. Systèmes de culture (4 modalités) : SCV (1, 2 et 3), systèmes de culture sur couvert végétal ; Lab, système conventionnel labour. Fertilisation minérale (3 modalités) : F1, modéré ; F2, forte ; F3, intermédiaire.



3.2 Démarche et dispositif expérimental

La démarche expérimentale s'inscrit dans une démarche de conception et d'évaluation de systèmes de culture à différentes échelles de travail (Figure I.12). L'originalité de la démarche est d'imbriquer deux approches, celle de la conception « *de novo* », basée sur une conception de systèmes en rupture par rapport à l'existant, et celle de la conception « *step by step* » qui vise une amélioration progressive des systèmes basée sur une évaluation à différentes étapes permettant des ajustements en continu des systèmes (Meynard et al., 2012 ; Husson et al., sous presse).

Dans le cadre de cette thèse, la majeure partie des expérimentations et des prélèvements ont été réalisés à l'échelle du site contrôlé (étape 1, Figure I.12), et dans une moindre mesure (uniquement pour les analyses spectrales) à l'échelle du réseau de fermes et de parcelles pilotes (étape 2).

3.2.1 Site expérimental de Ban Poa

Le site expérimental de Ban Poa (Lat. 19°33'N, Long. 102°59'E) se situe dans la partie occidentale de la Plaine des jarres, dans le district de Poukhout. Ce site a été créé en 2007 avec pour triple objectifs : i) de concevoir et d'évaluer des systèmes de production permettant une mise en valeur agricole durable de la zone, ii) de sensibiliser/former les partenaires du développement aux principes de l'agriculture de conservation, et iii) de produire/maintenir des collections diverses de matériel végétal (cultures alimentaires, fourragères ; plantes de couverture ; PROSA, 2007).

Les sols sur le site sont des Oxisols (classification USDA) dont la teneur en argile décroît graduellement de la partie supérieure (sols argileux) à la partie inférieure (sols sableux limoneux) du site (Figure I.13). Une rotation triennale de riz (*Oryza sativa* L.), maïs (*Zea mays* L.), et soja (*Glycine max* (L.) Merr.) a été initiée sur ce site en 2008, suivant 4 modalités de systèmes de culture (3 systèmes SCV et 1 système labour) et 3 niveaux de fertilisation (modéré à élevé) (Tableau I.3).

Tableau I.3 Facteurs et modalités étudiées dans la matrice expérimentale. Culture principale: riz cv. Sebota1, maïs hybride LVN10, soja cv. Asca. Plantes de couverture: Ec, petit mil (*Eleusine coracana* Gaern); Cc, pois d'Angôle (*Cajanus cajan*); stylo, luzerne du Brésil (*Stylosanthes guianensis* cv. CIAT 184); Av, *Avena sativa* L.; Sar, sarrazin (*Fagopyrum esculentum* Moench); ruzi, *Brachiaria ruziziensis*. Fertilisation: N apporté sous forme d'urée (46% N), P₂O₅ sous forme de thermophosphate (16% P₂O₅, 28% CaO, 18% MgO) et K₂O sous forme de KCl (60% K₂O).

Facteur	Modalités	
	Nb	Description
Culture principale	3	Riz, maïs ou soja
Système de culture	4	Rotation triennale de riz, maïs et soja conduit sous itinéraire: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Conventionnel labour (Lab): labour chaque année aux disques (larges puis offset) x enfouissement des résidus de récolte x pas de couverts associés ▪ Semis direct sous couvert végétal (SCV1, SCV2 et SCV3): zéro labour x couverture maximale des sols x plantes de couverture associées avant et avec les cultures princip. : <ul style="list-style-type: none"> - Avant (2007): Ec + Cc, Ec + stylo, et ruzi + Cc pour SCV1, SCV2 et SCV3 respecti. - En association avec le riz: stylo pour les 3 systèmes SCV - En association avec le maïs: Ec + Cc, stylo, et ruzi pour SCV1, SCV2 et SCV3 - En succession du soja: Av + Sar pour les 3 systèmes SCV
Fertilisation annuelle	3	- F1 : 60-80-60 kg.ha ⁻¹ de N-P ₂ O ₅ -K ₂ O (<i>N limité à 32 kg.ha⁻¹ pour le soja</i>) - F2 : 120-160-120 kg.ha ⁻¹ de N-P ₂ O ₅ -K ₂ O (<i>N limité à 32 kg.ha⁻¹ pour le soja</i>) - F3 : F2 pendant les 2 premières années; F1, par la suite

Tableau I.4 Localisation et détail des activités testées sur le réseau de fermes et de parcelles pilotes. Essais : Ruzi, semis direct de *B. ruziziensis* ; Briz, semis direct de *B. brizantha* cv Marandu ; Riz, semis direct de riz local (Krao Chao Lao Soung) en rotation avec une légumineuse fourragère (*Stylosanthes guianensis* cv CIAT 184)

	Village	Coordonnées géographiques (WGS 84)			Essais (nb)		
		Latitude	Longitude	Altitude (m)	Ruzi	Briz	Riz
1	Viengxay	19°34'N	103°21'E	1169	1	1	
2	Khay	19°34'N	103°21'E	1159	2	2	
3	Latbouak	19°35'N	103°15'E	1133	1	1	
4	Leng	19°30'N	103°11'E	1098	1		
5	Xoy Nafa	19°31'N	103°12'E	1105	1	1	1
6	Khangpeung	19°29'N	103°10'E	1100	2		
7	Pienglouang	19°31'N	103°04'E	1042	1	1	
8	Poa	19°33'N	102°59'E	1124	1	1	
9	Sixou	19°22'N	103°02'E	1103	1	1	
10	My1	19°24'N	103°07'E	1095	1		2
11	My2	19°25'N	103°06'E	1093	2	2	3
12	Latsen	19°01'N	103°01'E	1076	1	1	
TOTAL					15	11	6

Le choix de la rotation et des espèces assolées répondent aux contextes agraires local et régional : comme dans beaucoup d'autre pays d'Asie du Sud Est, le riz est la base des systèmes alimentaires et l'autosuffisance en riz, la clef de voute des systèmes de production (Chazée, 1998 ; Erout et Castella, 2002) ; le maïs dur, cultivé pour l'alimentation animale, est devenu la principale culture provinciale de la province avec des surfaces passant de 4000 ha en 2003 à plus de 15000 ha en 2007 (PAFO, 2008) ; le soja est une culture secondaire, moins fréquente dans les systèmes de production traditionnel (cultivée principalement par l'ethnie Hmong) ; elle a cependant été introduite dans la rotation compte tenue de la forte demande des pays voisins (notamment au Vietnam).

Le choix des espèces principales, mais surtout celui des espèces secondaires (plantes de couvertures associées) répond également à une logique agronomique : ces espèces ont été sélectionnées selon leur tolérance à l'acidité et la toxicité aluminique, sur la base de la littérature existante (Horne and Stur, 1999 ; Hédé et al., 2001 ; Séguy et al., 2001 et 2006) et d'essais agronomiques locaux antérieurs (PRONAE 2004-2006).

Les niveaux de fertilisation minérale annuels (Tableau I.3) ont été calculés selon les niveaux de rendements en grains attendus (principe de compensation des exportations minérales) et des objectifs de correction des déficiences minérales des sols (correction rapide ou progressive). Le niveau F1 représente un niveau de fertilisation modéré sensé compenser les exportations azotées (N) des cultures céréalières (objectif de rendement en grains de 2 à 4 Mg.ha⁻¹ de riz ou de maïs, avec 12 à 16 kg de N exportés par tonne de grains ; CIRAD-GRET, 2002), et compenser les exportations en potassium (K) liées à la culture du soja (objectif de rendement grains de 2 à 2,5 Mg.ha⁻¹ de soja, avec environ 23 kg de K₂O exportés par tonne de soja ; CIRAD-GRET 2002). Le niveau supérieur de fertilisation F2 est supposé permettre des niveaux de rendement en grains supérieurs (rendement potentiel des espèces cultivées), et des balances positives en N et K dans les sols. Tous les traitements ont par ailleurs reçu un amendement initiale de 2 Mg ha⁻¹ de calcaire broyé (production locale, broyats tamisés à 2mm, 27% de CaO selon des analyses réalisées en 2007 au CIRAD sur un échantillon composite) afin de corriger l'acidité des sols et de limiter la saturation aluminique. Des applications au sol de soufre (30 kg ha⁻¹, 99.5 % S), de sulfate de manganèse (20 kg ha⁻¹, 25% Mn), de sulfate de zinc (20 kg ha⁻¹, 25% Zn) et de Bore (10 kg ha⁻¹, 15% Bo) ont également été réalisées au démarrage des essais pour corriger les déficiences minérales observées en foliaire sur des essais agronomiques précédents (PRONAE, 2004-2006). Les amendements minéraux ont été enfouis dans le traitement conventionnel labour et épandues à la surface du sol dans les traitements SCV.

Le détail des itinéraires techniques (types et périodes de préparation parcellaire, outils et modalités de semis, périodes et modalités de récolte) est présenté dans le chapitre 2, section *material and method*.

Le dispositif statistique utilisé est un dispositif en split-split plot, avec le facteur « culture principale » en sous bloc (3 modalités : riz, maïs, soja, les trois cultures étant systématiquement assolées chaque année pour pallier la variabilité interannuelle), le facteur « système de culture » (4 modalités) en sous-sous bloc et le facteur « fertilisation » (3 modalités) en parcelle élémentaire, avec 3 répétitions de 900 m² (20x45 m) pour un total de 108 parcelles élémentaires (Figure I.13). Les deux-tiers des surfaces de ces parcelles élémentaires ont été utilisés pour de l'évaluation variétale (interaction génotypes – systèmes de culture). Les mesures effectuées et présentées dans ce travail ont été réalisées dans la partie centrale de ces parcelles élémentaires (sous bloc de 270 m², 6x45 m), pour lesquelles les variétés (riz, soja) et hybride (maïs) ont été maintenues à l'identique durant les quatre années d'expérimentation (2008-2011).

3.2.2 Réseau de fermes et de parcelles pilotes

Des prélèvements complémentaires ont été réalisés dans 32 parcelles d'agriculteurs (réseau de parcelles pilotes) localisées dans 12 villages différents (Tableau I.4). Elles se partagent entre parcelles de pâturage amélioré installé en semis direct et destinées à des activités d'engraissement de jeunes bovins (26 parcelles), et des parcelles de culture SCV dans lesquelles des plantes de couvertures sont cultivées en précédent ou succession du riz (6 parcelles). Le détail des itinéraires techniques est proposé dans le chapitre 4, section *material and method*.

3.3 Indicateurs et méthodes retenues pour l'évaluation des systèmes agricoles testés

Nous avons choisi d'évaluer les systèmes agricoles testés selon les trois critères suivants (De Schutter, 2011): les systèmes agricoles innovants doivent permettre d'augmenter (1) la production et (2) les revenus agricoles, tout en (3) préservant les ressources supportant les activités agricoles.

Le tableau I.5 présente les différents indicateurs retenus dans ce travail pour l'évaluation multicritères, à l'échelle de la parcelle, de ces systèmes. Les méthodes d'analyse correspondantes sont présentées dans les différentes parties des chapitres 3 et 4.

Tableau I.5 Critères et indicateurs retenus pour l'évaluation des systèmes agricoles à l'échelle parcellaire.

Critères d'évaluation		Indicateur
1. Performance agronomique	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Productivité du sol 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rendement grain ▪ Biomasses aériennes produites
2. Performance économique	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Revenu agricole ▪ Pertinence des investissements 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Marge brute ▪ Main d'œuvre ▪ Productivité du travail ▪ Valeur actuelle nette ▪ Retour sur investissement
3. Impact sur les propriétés des sols	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Restitutions organiques au sol ▪ Propriétés chimiques des sols ▪ Propriétés physiques des sols : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Stabilité structurale ▪ Espace poral ▪ Propriétés biologiques des sols <ul style="list-style-type: none"> ▪ Abondance microbienne ▪ Diversité microbienne totale ▪ Indicateur synthétique de qualité des sols 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Biomasses aériennes restituées au sol ▪ Ratio légumineuses/ graminées des biomasses restituées ▪ Teneurs en C et N, pH, P disponible, bases échangeables, CEC ▪ Diamètre moyen des particules (MWD) ▪ Densité apparente (Da) ▪ Biomasse moléculaire (qADN), densités B et F (real time qPCR) ▪ Structure génétique des communautés (B-RISA), diversité taxonomique (pyroséquençage), richesse (MOTU), diversité totale (Shannon), équitabilité (Evenness) ▪ Analyses multivariées des liens existant entre les spectres réfléchis dans le proche infrarouge (NIRS) et les propriétés des sols
4. Impact sur le fonctionnement biologique des sols	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Liens entre diversité microbienne et dynamiques du carbone dans les sols 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Analyses multivariées des liens existant entre diversité taxonomique microbienne et activités respiratoires des sols (microcosmes, marquage ¹³C)

C, carbone ; N, azote ; P, Phosphore ; B, Bactéries ; F, champignons ; qPCR, *quantitative polymerase chain reaction* ; B-RISA, *Bacterial Automated-ribosomal intergenic spacer analysis*; MOTU, *Molecular operational taxonomic units*

Chapitre 2

Evaluation agro-économique de systèmes SCV *vs.* labour dans un contexte de savane herbacée acide au Laos

L'évaluation des performances agronomiques et économiques de systèmes agricoles est une composante importante de l'évaluation agroécologique de ces systèmes (De schutter, 2011). En contexte de grande culture mécanisée, les systèmes SCV ont montré un effet positif à long terme sur les revenus agricoles, dû principalement à une réduction des coûts de production (gains en carburant, augmentation de la durée de vie du matériel agricole, gains en temps de travaux et en main d'œuvre) et dans une moindre mesure à des gains de productivité (Bolliger *et al.* 2006, Séguy *et al.* 2006, Triplett and Dick 2008). Comparativement, les études et données concernant l'impact de ces systèmes sur la productivité et la rentabilité en contexte de petite agriculture familiale sont beaucoup plus limitées (Dixon 2003).

Ce chapitre propose dans une première partie d'évaluer l'impact à court terme (après trois campagnes agricoles) et à l'échelle de la parcelle agricole de systèmes SCV vs. labour sur :

1) les performances agronomiques : effets comparatifs de ces systèmes sur la production de grains et de pailles,

2) les résultats économiques : effets comparatifs de ces systèmes sur les revenus agricoles, la productivité du travail ; la pertinence économique de ces systèmes est par ailleurs évaluée au travers de la valeur actuelle nette (VAN) et du retour sur investissement.

Cette analyse est appliquée à un contexte biophysique et agricole spécifique :

1) des terres marginales pour l'agriculture : sols de savane acides, peu fertiles et fortement saturés en Aluminium,

2) un contexte de petite agriculture familiale dépendante de prestations de services externes pour la mise en valeur agricole de ces espaces (prestations de labour).

La deuxième partie de ce chapitre analyse les conditions nécessaires à mettre en œuvre pour l'adoption et la diffusion d'itinéraires techniques innovants permettant d'accroître la durabilité de la production agricole.

Ce chapitre est présenté sous la forme d'un article scientifique qui a été accepté pour publication dans la revue *International Journal of Agricultural Sustainability* (Lienhard et al., 2013 ; DOI:10.1080/14735903.2013.806419).

**Profitability and opportunity of conservation agriculture in the acid savannah grasslands of
Laos**

Pascal Lienhard^{1,2*}, Khamkéo Panyasiri², Sengphanh Sayphoummie³, Bounma Leudphanane³,
Guillaume Lestrelin^{2,4}, Lucien Séguy⁵ and Florent Tivet¹

¹ CIRAD, UR SIA, F-34398 Montpellier cedex 5, France

² NAFRI, NCAC, PO Box 7170, Vientiane, Lao PDR

³ MAF, PROSA, PO Box 10118, Vientiane, Lao PDR

⁴ IRD, UMR220 GRED, F-34398 Montpellier cedex 5, France

⁵ Agroecoriz, France

*Corresponding author. Mailing address: CIRAD, UPR SIA, TA B-01/07, Av. Agropolis, 34398
Montpellier cedex 5, France. Phone (+33) 4 67 61 56 43, Fax : (+33) 4 67 61 75 13,

E-mail: pascal.lienhard@cirad.fr

Abstract

In north-eastern Laos, the savannah grasslands of the Plain of Jars cover vast areas of potentially cultivable land. However, soil acidity, low inherent fertility, and the absence of alternatives to tillage represent significant constraints to the development of sustainable smallholder agriculture. Our objective was to evaluate the potential for conservation agriculture to enhance soil productivity and farming system profitability. A 3-year rotation of rice / maize / soybean was tested under three fertilization levels and four agricultural systems: one conventional tillage-based (CT) system and three conservation agriculture (CA) systems based on no-tillage with cover crops. After four cropping seasons, our results show that, compared to CT, CA systems led to similar-to-higher grain production, similar-to-higher profits, higher opportunity of livestock system intensification, and higher labour productivity regardless of fertilization levels. While CA represents a relevant alternative to current practices, our results suggest that its contribution to the emergence of a sustainable smallholder agriculture is conditioned by broader institutional transformations, including the enrolment of local manufacturers and traders for deploying no-till implements and seed market channels for cover crops, long-term public support to maintain active research and technical mentoring to farmers, and possibly the integration of ecosystem services in agricultural policy.

Keywords: acid tropical soils; no-till; cover crops; soil productivity; system profitability; rainfed agriculture; crop-livestock systems; smallholders; two-wheel tractors; scaling-up conditions.

1. Introduction

The rapid increase in global food demand recorded over the past 50 years and the projected doubling of this demand over the next 50 years put land resources under very significant pressure to increase and sustain agricultural production (Tilman *et al.* 2002). This pressure is further accentuated by a rapidly growing demand for non-food agricultural products (Lal 2008). Increase in agricultural production can be achieved through the intensification and diversification of farming systems on existing cultivated land and the expansion of agriculture on marginal lands (IAEA 2000). One of the greatest potential for expansion lies in savannah regions of humid and sub-humid tropical areas. These regions comprise a sizeable amount of the land resources in many countries of Africa, Latin America, and include also the largely anthropic savannahs of tropical Asia (NASA 2012). They are suitable for rainfed cropping conditions, yet considered marginal due to low inherent fertility and susceptibility to rapid degradation (IAEA 2000, Fageria and Baligar 2008). In particular, the cultivation of these soils under intensive tillage-based agricultural practices can result in accelerated rates of soil erosion (Montgomery 2007), soil organic matter mineralization (Lal 2002, Corbeels *et al.* 2006), and soil biodiversity losses (Kladivok 2001, Govaerts *et al.* 2007). Low -or minimum- input cropping systems are unlikely sustainable on strongly acid and weathered soils, but with sufficient investment and adequate technologies, these soils can be highly productive (Séguy *et al.* 2006). Thus, there is a need to develop/improve management practices and define minimal investment requirements for sustainable agricultural production in tropical acid savannah grasslands.

Based on the three principles of minimal soil disturbance (no-till), permanent soil cover (mulch) and diversified crops rotations, the concept of conservation agriculture (CA) has gained increased public attention over the past decades as an economically and ecologically-sound alternative to tillage-based agriculture (Hobbs 2007, Triplett and Dick 2008, Kassam *et al.* 2009, Derspch *et al.* 2010, Jat *et al.* 2012). In particular, CA is being advocated for enhancing soil health and long term crop productivity (Hobbs 2007, Govaerts *et al.* 2007, Tivet *et al.* 2013). In large-scale agriculture, CA has been demonstrated to have long-term positive impacts on farm incomes, resulting mainly from a reduction in field operational costs, and, to a lesser extent, from increases in soil productivity (Dixon 2003, Bolliger *et al.* 2006, Séguy *et al.* 2006, Triplett and Dick 2008). Comparatively, data on the impacts of CA on soil productivity and profitability in small-scale agriculture is much more limited (Dixon 2003).

In this context, our objective was to evaluate the early effects of conservation vs. conventional agricultural management on soil productivity and profitability in a context of smallholder farming constrained by low soil fertility. The case study was conducted in the Plain of Jars, an altitude savannah grassland of about 80,000 ha located in Xieng Khouang Province, north-eastern Laos. Traditional farming systems in the area are based on lowland paddy rice cultivation and extensive livestock production in surrounding grasslands (Hacker *et al.* 1998, Lienhard *et al.* 2006). With limited opportunities for agricultural expansion in the lowlands, the development of rainfed agriculture in the uplands is a key challenge for increasing local agricultural production. However, low pH (5.0), high aluminium saturation (> 77%) and severe nutrients deficiencies represent important agronomic constraints for this expansion (Gibson 1997, Hacker *et al.* 1998). Attempts to develop rainfed productions started in the early 1980s and were all based on ploughing and limited-to-no soil amendments, this latter explaining mostly the slow expansion of rainfed cultivated areas during the last decades (Kongay *et al.* 2010). To respond to the challenge of developing sustainable rainfed cropping systems in the region, we initiated in 2008 a 3-year rotation of rice (*Oryza sativa* L.), maize (*Zea mays* L.), and soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) under four management practices (conservation vs conventional tillage-based agriculture) and three levels of mineral fertilization (moderate to high). The effects of management practices on soil productivity and economic returns were evaluated four years after the conversion of native grasslands into agricultural land. The results are presented and discussed in a first section of this paper. In a second section, we discuss the conditions for the emergence of a sustainable smallholder agriculture based on conservation agriculture in Laos' savannah grasslands.

2. Material and methods

2.1. Experimental design

Experiments were conducted in Poa village (Lat. 19°33'N, Long. 102°59'E) at 1,130 m AMSL. The climate is tropical and mountainous with a 6-month (April-September) wet and hot season and a 6-month dry season including 3 months of cold (December-February). The mean annual precipitation is 1,400 mm. The soils at the site are red clayey Oxisols (USDA classification). Rice and maize are the main staple and commercial crops cultivated in the area (Lienhard *et al.* 2006). Soybean is cultivated to a lesser extent, but was integrated into the

rotation sequence due to the large demand of neighboring countries (e.g., Vietnam). The 3-year rotation of rice, maize and soybean was conducted in a split-split plot experimental design combining three factors (Table II.1) with 3 replications of 270 m² each for a total of 108 sub-sub-plots. The analysis was limited to rice-starting treatments (Table II.1), rice being the most acid-tolerant crop (Fageria and Baligar 2008), and to the two extreme fertilization levels (F1 and F2; total of 8 treatments and 24 plots).

Table II.1. Experimental design and treatments selected for the study. Main crops: rice cv. Sebota1, maize hybrid LVN10, soybean cv. Asca. Cover crops: Fm, finger millet (*Eleusine coracana* Gaern); Pp, pigeon pea (*Cajanus cajan*); stylo, *Stylosanthes guianensis* cv. CIAT 184; oat, *Avena sativa* L.; buckwheat, *Fagopyrum esculentum* Moench; ruzi, ruzi grass (*Brachiaria ruziziensis*). Fertilization: N comes from urea (46% N), P₂O₅ from thermo phosphate (16% P₂O₅, 28% CaO, 18% MgO) and K₂O from KCl (60% K₂O).

* Modalities selected for the study.

Factor	Modalities	
	Nb	Description
Starting crop	3 (1*)	Rice*, or maize or soybean
Cropping system	4*	3-year rotation of rice, maize and soybean under: <ul style="list-style-type: none"> ▪ 1 conventional tillage system (CT): Ploughing with discs x burying of former crop residues x no cover crops ▪ 3 conservation agriculture systems (CA1, CA2, and CA3): no-tillage x maximum soil cover x cover crops associated prior to and with main crops: <ul style="list-style-type: none"> - prior to: Fm + Pp, Fm + stylo, and ruzi + Pp for CA1, CA2 and CA3 respectively - with rice: stylo for all CAs - with maize: Fm + Pp, stylo, and ruzi for CA1, CA2 and CA3 respectively - in succession of soybean: oat + buckwheat for all CAs
Annual fertilization	3 (2*)	- F1* : 60-80-60 kg.ha ⁻¹ of N-P ₂ O ₅ -K ₂ O (<i>N limited to 32 kgha⁻¹ for soybean</i>) - F2* : 120-160-120 kg.ha ⁻¹ of N-P ₂ O ₅ -K ₂ O (<i>N limited to 32 kgha⁻¹ for soybean</i>) - F3 : F2 during the two first years; F1 after that

All treatments received an initial application of 2 Mg ha⁻¹ of locally-produced lime (27% of CaO) to increase soil pH and limit Aluminum toxicity. Sulfur powder (30 kg ha⁻¹, 99.5 % S), manganese sulfate (20 kg ha⁻¹, 25% Mn), zinc sulfate (20 kg ha⁻¹, 25% Zn) and Borax (10 kg ha⁻¹, 15% Bo) were also applied to correct micronutrient deficiencies observed in previous experiments (Lienhard *et al.* 2008). Soil mineral amendments were buried by ploughing under CT and broadcasted on the soil surface under CA. Annual mineral fertilization rates (Table II.1) were calculated according to grain yields expectations: F1 represents a moderate fertilization level that was expected to compensate nitrogen (N) exportations related to cereal production (about 12 to 16 kg of N exported per Mg of rice or maize grains exported, CIRAD-GRET 2002), and compensate potassium (K) exportations related to soybean production (about 23 kg of K₂O exported per Mg of soybean exported, CIRAD-GRET 2002). The higher fertilization level, F2, was expected to ensure higher yields and a positive balance of N and K in soils.

Land preparation under CT was performed by local contractors on a fee-for-service basis and consisted in one annual disc ploughing with a 90 hp tractor in April at the beginning of the rainy season. It was followed by one light offset disc harrowing before sowing. In 2010, ploughing was also realized in November to limit weed flowering and spreading. Land preparation under CA systems consisted in the rolling of cover crops and crops residues in March-April, using a locally-made rolling knife for two-wheel tractors (Figure II.1a), and in the spraying of total herbicides (Glyphosate and 2.4D-amin) 20 to 30 days before sowing, using a 20L-wheel sprayer (Knapick, Brazil, Figure II.1b).

All crops were sown using a 1-row no-till (NT) planter (Fitarelli, Brazil) initially designed for animal traction and locally adapted for two-wheel tractors, which are popular amongst smallholders in the area. The direct seeder has a coulter, which cuts into the mulch, a double disc opener, which opens a small rip-line, a seed and fertilizer hopper, and finally a drive wheel that activates seed and fertilizer release and covers the seed at the same time (Figure II.1c). In 2007, cover crops were cultivated prior to main crops under CA systems (Table II.1) as a preliminary “biological” tillage (e.g., soil structure improvement by mulch, roots, macrofauna and microbial activity) in replacement of traditional ploughing under CT. In 2007, finger millet, ruzi grass, stylo, and pigeon pea (Table II.1) were sown in the beginning of July (late establishment) at a sowing density of 10, 12, 6 and 18 kg ha⁻¹ respectively, and harvested in October, November and February, respectively (no harvest of stylo legume). Finger millet and pigeon pea productions were used to feed pigs in partial replacement of maize and commercial protein supplement respectively. Ruzi grass seed production was sold locally to development projects working on cattle fodder system intensification. Rice, maize and soybean were sown in rows in May using the same NT planter, with 35, 75, and 40 cm between rows and a sowing density of 55, 20 and 60 kg ha⁻¹ respectively. Rice and maize were harvested in October, soybean in September, and all productions were sold locally. Stylo legume, ruzi grass and finger millet (Table II.1) were broadcasted in rice and maize 30 days after main crop sowing, at a sowing density of 8, 10 and 10 kg ha⁻¹ respectively. Pigeon pea (22 kg ha⁻¹) was manually sown in maize inter-row 30 days after maize sowing, by using a bamboo stick. Oat (80 kg ha⁻¹) and buckwheat (15 kg ha⁻¹) were broadcasted in soybean, after the first leaves of soybean started to fall. In 2009, stylo legume and ruzi grass associated to maize in CA2 and CA3 systems (Table II.1) were manually cut and exported to feed local bulls maintained in stalls for a 110-day fattening period.

Figure II.1 CA implements used for land preparation and sowing: a) locally-made rolling knife for two-wheel tractor, b) 20L wheel sprayer (Knapick, Brazil), and c) 1-row NT planter (Fitarelli, Brazil) adapted for two-wheel tractor



2.2. Soil productivity

Grain yield and aboveground dry matter (AGDM) production were used as indicators of soil productivity. AGDM productions included weeds and cover crops contributions and were estimated twice a year: at main crops harvest and before land preparation. Measures were made in each plot on six subplots of 4 m² each randomly chosen. A random lump crop residue sample of 2 kg was taken from the six subplots to determine dry biomass. In 2009, stylo legume and ruzi grass biomasses exported for cattle fattening were measured at plot scale (270 m²). Grain yields were annually measured at plot scale.

2.3. Cropping system profitability

Net income, net present value, return on investments, and labour productivity were used as indicators of the cropping systems' profitability. Net income was calculated as the difference between production value and production costs per unit area. The net present value (NPV) of an income stream is the sum of the present values of the individual amounts in the income stream (Baker 2000) and was calculated as follows:

$$NPV(i, N) = \sum_{t=0}^N \frac{R_t}{(1+i)^t}$$

where t is the time of the cash flow, N the total number of periods (3 for conventional tillage, 4 for conservation agriculture systems), R_t the net cash flow (i.e. cash inflow – cash outflow) at time t , and i the discount rate (i.e. the rate of return that could be earned investing the money someplace else; also referred as the opportunity cost of capital). Here we used a discount

rate of 7%, which is the casual interest rate in local commercial banks for long term deposit. Investments (e.g., fencing, machinery) were calculated based on the expected useful life and depreciation of the equipments. Labour productivity was calculated as the net income to labour ratio. Inputs and labour were annually collected at plot scale. In the absence of local markets for forage grains, the economic value of finger millet and pigeon pea used for pigs was calculated by substitution: finger millet, which replaced maize in pig daily food intake, was given 50% of maize purchasing price. Similarly, pigeon pea was given 50% of commercial protein supplement price. The benefits from bulls fattening activity were shared between CA2 and CA3 systems according to the relative contribution of stylo legume and ruzi grass respectively to the overall animal protein supply. The latter was calculated as the total amount of dry matter supplied, multiplied by the mean protein content of the forage measured on lump forage samples at the Vietnamese Soil and Fertilizer Research Institute (mean protein content of 22 and 13% for stylo and ruzi respectively). Economic calculations were made using constant mean price in USD over the 2007-2010 period to avoid bias related to price variations over the years. Annual data were aggregated to calculate total grain and stubble productions, production costs, net incomes, and mean labour productivity.

2.4. Statistics

The effects of agricultural management on soil productivity and economic returns were tested separately for each fertilization level by one-way analysis of variance (ANOVA). Differences between means were tested by paired multiple comparison using Fisher (LSD) test ($P < 0.05$).

3. Results

3.1. Effects of agricultural systems on soil productivity

3.1.1. Grain yields

Four years after the conversion of savannah grassland into agricultural land, we observed significant differences in grain yields according to fertilizer use with a total mean grain production for the three main crops of 6.8 and 11.2 Mgha⁻¹ under F1 and F2 fertilization levels respectively (Table II.2). However, the gains in productivity related to increased fertilization were different according to crops: in the early stage of cultivation, hybrid maize appeared as the most sensitive to variations in NPK supply with almost 2-fold higher maize yields observed

under F2 as compared to F1 (Figure II.2a). The effect of higher fertilization on grain yield increase was less important on rice (40 to 80% increase under F2 as compared to F1) and soybean (20 to 40% increase).

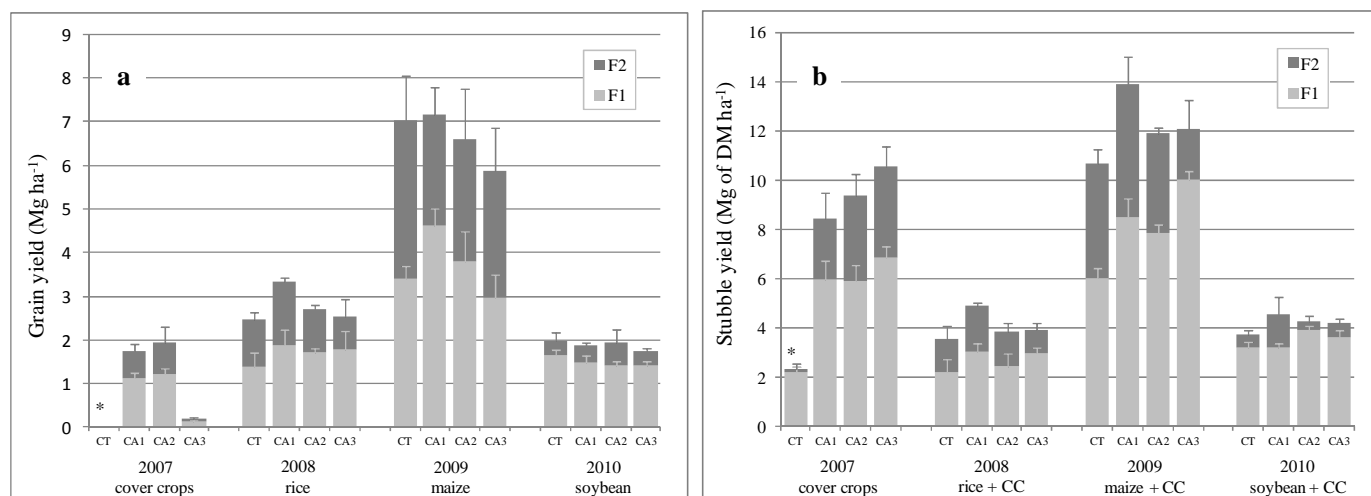
Table II.2. Soil productivity per fertilization level and cropping system (total 2007-2010). Fertilization level: F1, medium; F2, high. Cropping systems: CT, conventional tillage; CA (1, 2, and 3), conservation agriculture systems. DM: dry matter. Letters between brackets indicate significant differences according Fisher test ($P < 0.05$).

Agricultural system	Grain yield (Mg ha ⁻¹)		Stubble yield (Mg of DM ha ⁻¹)	
	(1)	(1) + (2)	(1)	(1) + (2)*
<i>F1</i>				
CT	6.4 ± 0.6 [b]	6.4 ± 0.6 [c]	10.3 ± 1.0 [b]	13.8 ± 0.7 [c]
CA1	7.9 ± 0.7 [a]	9.3 ± 0.8 [a]	12.3 ± 1.3 [a]	20.5 ± 1.4 [b]
CA2	6.8 ± 0.7 [ab]	8.0 ± 0.9 [b]	10.8 ± 0.3 [ab]	19.1 ± 0.4 [b]
CA3	6.2 ± 0.5 [b]	6.3 ± 0.5 [c]	9.7 ± 0.7 [b]	23.1 ± 0.7 [a]
<i>F2</i>				
CT	11.6 ± 1.1 [ab]	11.6 ± 1.1 [bc]	17.7 ± 0.9 [ab]	20.5 ± 0.8 [b]
CA1	12.3 ± 0.7 [a]	14.3 ± 0.8 [a]	19.1 ± 0.8 [a]	31.9 ± 0.9 [a]
CA2	11.2 ± 1.2 [ab]	13.1 ± 1.4 [ab]	17.3 ± 0.9 [b]	28.9 ± 1.5 [a]
CA3	9.9 ± 1.3 [b]	10.1 ± 1.3 [c]	14.5 ± 1.0 [c]	30.4 ± 1.1 [a]

(1) Main crops; (2) Cover crops; * include weeds biomass

The analysis of cropping systems' effect on grain yields showed that grain production decreased along the gradient CA1 ≥ CA2 and CT ≥ CA3 (Table II.2). This trend logically increased when considering the grain production of the cover crops associated prior to and with main crops in CA systems (Table II.2).

Figure II.2 Grain (a) and stubble (b) yields per fertilization level, cropping system and crop. Fertilization level: F1 (medium) and F2 (high). Cropping systems: CT, conventional tillage; CA (1, 2, and 3), conservation agriculture systems. Error bars indicate standard deviations of the means, n = 3. DM: dry matter. CC: cover crops. * savannah grassland.



3.1.2. Stubble yields

As for grains, we observed significant differences in stubble yields according to fertilizer use with 1.5-fold higher biomasses produced under F2 than under F1 (Table II.2). In addition, the use of cover crops prior to and with main crops under CA systems modified significantly the biomass production between agricultural systems, with 1.5-fold higher total AGDM observed under all CA systems as compared to CT (Table II.2). The mean AGDM exported in 2009 under CA2 and CA3 for cattle fattening was of 1.1 and 3.1 Mg ha⁻¹ under F1 for stylo and ruzi respectively, and of 0.8 and 2.7 Mg ha⁻¹ under F2 for stylo and ruzi respectively (data not shown).

3.2. Effects of agricultural systems on economic return

3.2.1. Production costs

We observed logically significant differences in production costs depending on fertilizer use with total mean production costs of 1760 and 2450 USD ha⁻¹ under F1 and F2 respectively (Table II.3).

We observed higher initial investments under CAs (from 730 (F1) to 1020 (F2) USD/ha) than under conventional tillage (from 530 (F1) to 700 (F2) USD/ha), due to cover crops cultivation prior to rice cropping and the need for specific implements like rolling knife or cutting disc for seed drill (Figure II.3). Despite higher initial investments under CAs, the total production costs were significantly higher under CT than under CA systems (Table II.3), due to lower annual variable costs, in particular for land preparation and weed management (Figure II.3).

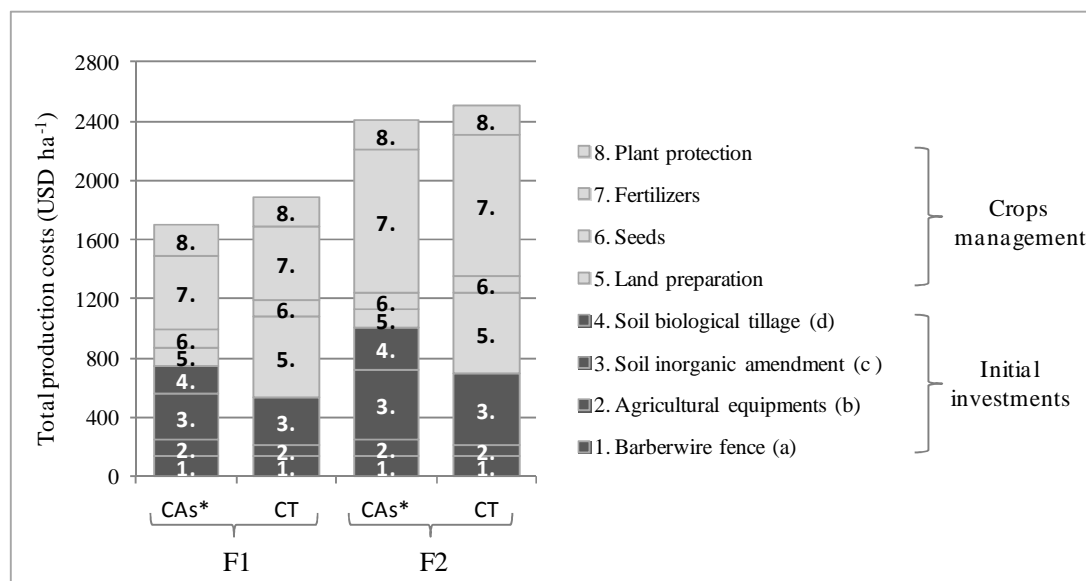
Regardless of the cropping system, fertilizers represent the main production cost and account for 45% (CT x F1) to 65% (CAs x F2) of total production costs (Figure II.3).

Table II.3 Profitability per fertilization level and cropping system (total 2007-2010). Fertilization level: F1 (medium) and F2 (high). Cropping systems: CT, conventional tillage; CA (1, 2 and 3), conservation agriculture systems. Net income: difference between production value and production costs. Net present value: sum of the present values of the individual annual cash flows. Labour productivity: net income to labour ratio. wd: working day. Letters between brackets indicate significant differences according Fisher test ($P < 0.05$).

Cropping system	Production cost (USD ha ⁻¹)		Net income (USD ha ⁻¹)		Net Present value (USD ha ⁻¹)	Labour (wd ha ⁻¹)	Labour productivity (USD wd ⁻¹)
	(1) + (2)	(1)	(1) + (2)	(1)	(1) + (2)	(1) + (2)	(1) + (2)
<i>F1</i>							
CT	1897 ± 14 [a]	223 ± 89 [b]	223 ± 89 [c]		168 ± 65 [c]	227 ± 14 [b]	1.0 ± 0.3 [c]
CA1	1671 ± 26 [c]	612 ± 81 [a]	834 ± 93 [a]		596 ± 61 [a]	234 ± 13 [b]	3.6 ± 0.8 [a]
CA2	1753 ± 15 [b]	265 ± 62 [b]	507 ± 73 [b]		332 ± 52 [b]	252 ± 17 [a]	2.0 ± 0.5 [b]
CA3	1710 ± 28 [c]	201 ± 97 [b]	837 ± 96 [a]		617 ± 32 [a]	261 ± 27 [a]	3.2 ± 0.8 [a]
<i>F2</i>							
CT	2522 ± 16 [a]	759 ± 84 [b]	759 ± 84 [c]		593 ± 79 [c]	247 ± 17 [c]	3.1 ± 0.3 [c]
CA1	2404 ± 29 [b]	969 ± 80 [a]	1241 ± 88 [a]		920 ± 71 [a]	255 ± 12 [bc]	4.9 ± 0.7 [a]
CA2	2442 ± 54 [b]	772 ± 96 [b]	1056 ± 102 [b]		749 ± 88 [b]	271 ± 18 [ab]	3.9 ± 0.6 [b]
CA3	2413 ± 47 [b]	444 ± 98 [c]	1095 ± 121 [b]		812 ± 63 [b]	277 ± 23 [a]	4.0 ± 0.8 [b]

(1) Main crops; (2) Cover crops

Figure II.3 Production costs distribution per fertilization level and cropping system (total 2007 - 2010). Fertilization level: F1 (medium) and F2 (high). Cropping systems: CT, conventional tillage; CA (1, 2 and 3), conservation agriculture systems. * Mean value of the three CA systems.



(a) 4-line barber wire fence with wood pots every 2 meters, expected useful life of 8 years, depreciation value of 15%; (b) 1-row Fitarelli seed drill adapted for hand tractor with cutting disc and disc openers (500 USD in 2006), expected useful life of 10 years, depreciation value of 15%; performance of 10 ha. year⁻¹ (capacity of 0.5 ha. day⁻¹ for a 20-25 days sowing period); 20L-Knapick wheel sprayer (250 USD in 2006), expected useful life of 10 years, depreciation value of 15%; performance of 20 ha. year⁻¹ (capacity of 2 ha. Day⁻¹ for a 10-15 days spraying period); rolling knife for hand tractor (only for CA systems, 300 USD), expected useful life of 15 years, depreciation value of 10%; performance of 40 ha. year⁻¹ (capacity of 2 ha. day⁻¹ for a 20-25 days rolling period); (c) F1: 2 Mg ha⁻¹ of local lime, 1 Mg ha⁻¹ of thermo phosphate and 80 kg ha⁻¹ of micronutrients (S, Bo, Mn and Zn); F2: similar fertilization except for thermo phosphate (2 Mg ha⁻¹); (d) cover crops cultivated in 2007 in CA systems in replacement of soil ploughing; include land preparation, seeds and NK fertilizers.

3.2.2. Net incomes and net present values

We observed a positive but highly variable effect of agricultural systems on profits, with total net incomes ranging from 200 to 1300 USD ha⁻¹ depending on the fertilization level, cropping system, and the integration of cover crops value into the economic calculations (Table II.3). We found 1.5 to 3-fold higher net incomes under F2 than under F1 (Table II.3), mainly due to the positive grain yield response of maize to increased fertilization (Figure II.2a). Without cover crops, net incomes decreased along the gradient CA1 > CA2 and CT ≥ CA3 (Table II.3), due to lower production costs (Table II.3) and similar (CA2, CA3) to higher (CA1) grain production under CA systems (Table II.2). The significant differences in net incomes observed between CT x F2 and CA3 x F2 (Table II.2) are explained by differences in soybean production (Figure II.2a) in context of high soybean sale prices (mean value of 690 USD Mg⁻¹ during the experiment phase). When considering cover crops additional economic value, net incomes decreased along the gradient CA1 and CA3 > CA2 > CT (Table II.3), due to the additional benefits from pigs (CA1) or cattle (CA2, CA3) fattening activities and forage seeds sales (CA3).

The net present values decreased along a gradient similar to the one observed for the cumulated net incomes (Table II.3). However, we observed lower differences of net present values between conventional and conservation agriculture systems as compared to the cumulated net incomes, due to the one-year cultivation of forage crops prior to rice cultivation under CA systems (Table II.3).

3.2.3. Labour requirements and labour productivity

We observed significant differences in labour requirements depending on fertilization levels. Due to higher requirements for grain harvest and post-harvest processing, more labour was required over the four cropping seasons under F2 (262 working days ha⁻¹) than under F1 (244 working days ha⁻¹) (Table II.3). Labour requirements were significantly higher under CA2 and CA3 than under CA1 and CT (Table II.3) due to increased labour for the slashing of stylo (CA2) and ruzi (CA3) for 2009 cattle fattening activities. Annual mean labour force ranged from 55 to 90 working days ha⁻¹ depending on fertilization level, cropping systems and cultivated crops, but the labour requirements at the beginning of the rainy season (April – June) never exceeded 25 working days ha⁻¹ regardless of the agricultural system (data not shown).

We observed variable effects of agricultural systems on labour productivity according to fertilization level and agricultural systems, with mean labour productivity over the four-year period ranging from 1.0 to 5.0 USD per working day (Table II.3). Mean labour productivity was found 1.5 (F2) to 3-fold (F1) higher under CA systems than under CT (Table II.3).

4. Discussion

4.1. Conservation versus tillage-based agricultural systems

4.1.1. Effects on soil productivity

Our four-year experiment shows that total grain production was similar (CA2 and CA3) to higher (CA1) under CA systems than under CT independently of the fertilization level (Table II.2). These results contrast with studies showing that crop productivity is reduced under NT systems, especially during the first years of conversion towards CA (Corbeels *et al.* 2006, Ogle *et al.* 2012). Instead, they highlight that soil productivity is either not or positively affected by CA management, being similar in this to several studies (Abrol *et al.* 2005, Séguy *et al.* 2006, Derpsh 2010, Johansen *et al.* 2012).

In addition, larger differences in soil productivity between CT and CA systems could be observed in the coming years. Indeed, Lienhard *et al.* (2012) have shown on the same experimental site that CT was leading to a rapid degradation of the physico-chemical properties of top soils (e.g., decreased aggregate stability, reduced organic carbon and nitrogen contents) as well as a decrease in microbial abundance (e.g., reduced total biomass, bacterial and fungal densities). These impacts jeopardize long-term agricultural sustainability (Kladivko 2001, Govaerts *et al.* 2007).

Finally, compared to CT, CA systems offer a more diversified grain production. In turn, this production can contribute to livestock fodder system intensification and could potentially be valorised through new seeds market channels (e.g., forage seeds, oat, and buckwheat).

In addition, grain productivity can still significantly be improved since, under similar ecological conditions (i.e., tropical acid savannahs of the Brazilian Cerrados) and with similar fertilization levels, Séguy *et al.* (2006) reported grain yields higher than 6 and 4 Mg ha⁻¹ for rice and soybean respectively. Further experimentation to select adequate varieties, sowing dates, cropping itineraries, and more diversified leguminous cover crops could help further improve soil productivity.

While natural savannah grasslands show a mean annual AGDM production of 2.6 Mg ha⁻¹ (Lienhard *et al.* 2012), their conversion to agricultural land led to mean annual AGDM productions ranging from 4 to 8 Mg ha⁻¹ (Table II.2). This represents a substantial increase in biomass production, both in terms of quantity and diversity. Compared to CT, CA systems were found to produce 1.5-fold higher AGDM biomass and appear therefore more capable to ensure sustainable production and income diversification. Most of this biomass was used for *in situ* recycling and has been shown to contribute to enhancing soil chemical, physical and biological properties (Lienhard *et al.* 2012). A small part (5 to 15% of total AGDM production) was also used under CA2 and CA3 systems (during the maize intercropping sequence) as fresh forage for cattle feeding.

As in many developing countries (Lal 2005, Kassam *et al.* 2009, Johansen *et al.* 2012, Valbuena *et al.* 2012), the share of crop residues and cover crop biomass between *in situ* recycling, livestock and other options like energy supply is a key issue influencing the effects of CA systems on soil productivity and profitability in the Plain of Jars. CA requires a critical level of crop residues to maintain soil properties and prevent land degradation (Govaerts *et al.* 2007, Blanco-Canqui and Lal 2009, Kassam *et al.* 2009). At the same time, livestock plays a crucial role – as a source of food, income and living capital – in the traditional farming systems of the Plain of Jars (Gibson 1997, Lienhard *et al.* 2006). The intensification of the cattle industry is also a priority of Lao authorities to alleviate poverty (Gol 2004). Finally, new opportunities are emerging in the Plain of Jars (Lienhard *et al.* 2006) and, more generally, in Southeast Asia (Lal 2005) for using crop residues for energy supply such as biofuel and biogas. Thus, further research would be needed to improve AGDM production, notably during rice and soybean cropping sequences for which low AGDM production was observed (<5 Mg ha⁻¹, Figure II.2b). For instance, AGDM production could potentially be improved by replacing the broadcasting of cover crops with more effective sowing methods. Boulakia *et al.* (2008) showed the effective establishment of stylo into rice by sowing stylo at rice tillering early stage using a 2-row NT planter for hand tractor. The use of simple and cheap manual wheel NT planter (Figure II.4) may also help improving the establishment of cover crops and subsequent biomass production.

Figure II.4 Manual wheel NT planter (Brazil) suitable for the sowing in line of various crops under limited soil mulch conditions.



4.1.2. Effects on profitability

After four cropping seasons, our results show that total net incomes were similar (CA2 and CA3 without cover crop value) to higher (CA1; CA2 and CA3 with cover crop additional value) under CA systems than under CT (Table II.3). These results are linked to similar-to-higher grain productions (Table II.2), lower production costs (Table II.3), and higher opportunities for income diversification under CA systems. Similar observations were made in studies conducted in both large-scale (Dixon 2003, Hobbs 2007, Triplett and Dick 2008, Derpsh *et al.* 2010) and small-scale (Abrol *et al.* 2005, Johansen *et al.* 2012) mechanized farming systems. While the latter studies highlight that the main interest of farmers for adopting CA relates to reduced field operational costs (e.g., fuel conservation, labour cost reduction, longer machinery life), reduced production costs in our study were mainly related to land preparation, with higher fees for tractor ploughing under CT than for rolling and herbicide spraying under CA (Figure II.3). At the same time, if implementation costs were significantly lower for CA systems, initial investments were higher compared to CT (Figure II.3). Higher initial investment requirements under CA as compared to CT have been described as a major constraint for CA adoption in other small-scale agricultural conditions (Kassam *et al.* 2009, Chaberski *et al.* 2011), but is often neglected in most comparative costs-benefits analysis (Hobbs 2007, Triplett and Dick 2008).

Compared to CT, CA systems offer higher opportunities for income diversification in relation to forage seeds sales (CA3), forage grains used for pigs production (CA1, CA2), and forage used for cattle fattening (CA2, CA3) (Table II.3). These results are in line with other studies showing the economic interest of using part of the cover crops production for livestock

farming activities (Husson *et al.* 2003, Jullien *et al.* 2008). Thus, the design and promotion of integrated crop-livestock farming systems represents undoubtedly an interesting pathway for the dissemination of CA systems in the Plain of Jars. The development of markets for cover crops constitutes also an important precondition for the diversification of agricultural systems and the adoption of intercropping practices (Lienhard *et al.* 2008, Lestrelin *et al.* 2012b).

A key challenge for many rural households of Southeast Asia is certainly how to optimize the use of limited labour force (Garrity 1996). The effect of agricultural systems on labour requirements and labour productivity is therefore a relevant economic tool to evaluate the potential interest of innovative agricultural systems for smallholders. In contrast with many studies (e.g., Hobbs 2007, Triplett and Dick 2008, Kassam *et al.* 2009), our experiments show that the establishment and management of cover crops can engender higher total labour requirements under CA than under CT (Table II.3). However, with mechanized land preparation and sowing operations, all agricultural systems tested required fairly limited labour (<25 md ha⁻¹) at the beginning of the rainy season (April – June). These systems allow thus to avoid competition with lowland paddy rice establishment which remains a priority for the smallholders of the region (Lienhard *et al.* 2006). Finally, CA systems appeared more labour-effective with a mean labour productivity 1.5 to 3-fold higher under CA than under CT (Table II.3).

Jobard (2010) estimated that the annual income of rural households in the area ranges between 1200 and 2700 USD. The promotion of the most effective CA crop-livestock systems (CA1 and CA3) tested in the present study would allow generating mean annual net income of 300 USD ha⁻¹, hence contributing to improve household income by 10 to 25% for each hectare cultivated under CA.

4.2. Facilitating the emergence of a sustainable CA-based smallholder agriculture in the savannah grasslands of Laos

The results of our study suggest that CA could represent a relevant alternative to current tillage-based agricultural systems for expanding smallholder agricultural production in a marginal environment like the acid savannah grasslands of the Plain of Jars. Beyond the agro-ecological dimension however, various studies suggest that the dissemination of CA practices among smallholders may also require broader organizational, institutional and policy transformations (e.g., Erenstein 2003, Knowler and Bradshaw 2007, Lestrelin *et al.* 2012a, b).

4.2.1. Enhancing local access to CA-specific implements

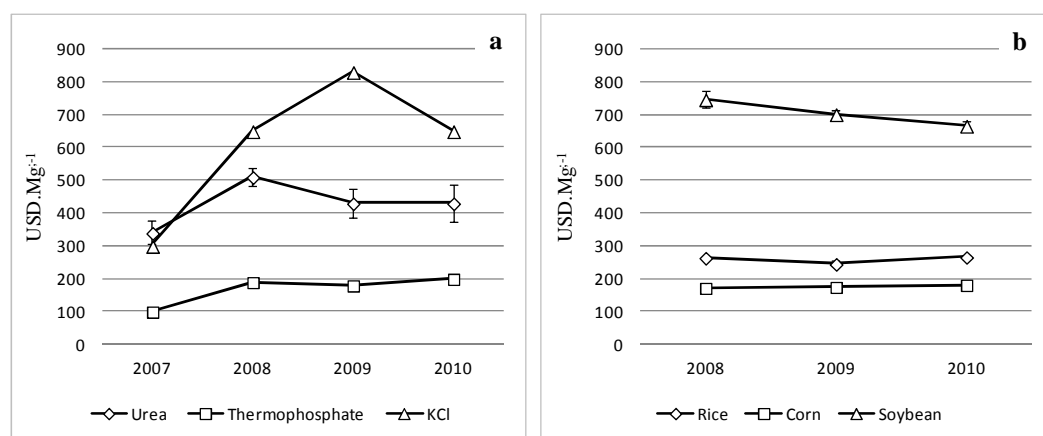
As indicated above, the cultivation of lowland paddy rice remains a priority for the rural households of the study area. Households with access to lowland paddy fields allocate most of their labour force to this production at the beginning of the rainy season. As a result, innovative farming systems in the uplands have limited chance to expand without specific, small-scale equipment for land preparation and sowing operations. Yet, the absence and the cost of suitable implements are often described as a key bottleneck for CA wide adoption worldwide (Abrol *et al.* 2005, Kassam *et al.* 2009, Derpsh *et al.* 2010, Johansen *et al.* 2012). In our experiments, for instance, the NT planter and wheel sprayer were imported from Brazil, making the acquisition and maintenance processes very complex and costly. Thus, an increased enrolment of local manufacturers would be needed for developing and deploying affordable and effective CA implements.

4.2.2. Reducing fertilization costs

In our experiment, fertilizers represented the main production cost and accounted for 45% to 65% of the total production costs (Figure II.3). Due to the oil crisis, fertilizer prices have experienced a sharp increase after 2007 (Figure II.5a), while agricultural prices have been steady or decreasing (Figure II.5b). As a result, fertilization cost increased by 80% between 2007 and 2010, jeopardizing the economic benefits in the absence of a similar increased value of the production. A regional study on fertilizers' diversity, price and accessibility would allow choosing the cheapest NPK formulation. The identification of an increased number of regional traders and the negotiation of more important volumes might also help reducing fertilizers unit prices. Finally, the recent opening of a potassium (K) factory¹ in Laos may also help reducing the cost of K₂O supply, this latter showing the highest price increase (+116% in four years, Figure II.5a). A reduction of K₂O supply to cereal may have little effect on soil nutrients balance and productivity unless cereal straws are returned to the soils (5 kg of K₂O exported per Mg of rice or maize grains exported, but 10 to 30 kg of K₂O exported per Mg of rice or maize straws exported, CIRAD-GRET 2002).

¹Vientiane Times, Feb 13, 2012. "The Lao government has given permission for the Vietnam Chemical Group (Vinachem) to excavate and process potassium in Khammuan province."

Figure II.5 Local prices evolution of: a) mineral fertilizers (N, P₂O₅, and K₂O), and b) main crops (rice, maize, and soybean). Bars indicate standard deviation values.



The main strategy to reduce fertilizer use and cost is to increase the amount and diversity of plant material returns to the soil. Cover crops could notably be more diversified and include legumes such as hairy vetch (*Vicia villosa*), faba bean (*Vicia faba*) and/or grasspea (*Lathyrus sativus*) to increase the N pool directly accessible for rice and maize (Séguy *et al.* 2006).

4.2.3. Improving first year economic return

In our experiments, forage crops cultivated prior to rice cropping under CA systems for soil biological tillage were harvested and economic returns were related to forage grain sales or use for pig feeding. In the absence of forage seed market and/or subsidies for soil improvement, the cost of this first cropping year is a major constraint for the diffusion of the CA systems tested. It decreases the net present value of CA systems and increases the economic risks for farmers and credit suppliers. However, *in-situ* experiments have shown that the direct-seeding of rice after the chemical control of native grass could give similar grain productivity (Jobard 2010, Lestrelin *et al.* 2012a). Thus, one option would be to replace this first year of soil biological improvement by the direct seeding of rice associated with forage species (e.g., ruzi grass, stylo legume).

4.2.4. Reshaping institutions and policies

CA systems are capital-intensive for smallholders and may therefore require some level of financial support to be promoted and implemented. In particular, with limited guarantees (e.g., permanent land titles) to support their demand, many smallholders from our study area encounter difficulties in gaining access to bank loans that are, in any case, subject to high interest rates (14

to 18% per year, Lienhard *et al.* 2008). The one-year refund period generally applied by creditors in the Plain of Jars is also poorly adapted to the timeframe of the integrated crop-livestock systems tested by our research team. Facilitated access to mid-term credit (5 years) with low interest rate (3 to 5%) would be necessary to support investments like barbed wire, CA-specific equipments and soil amendments for correcting soil nutrient deficiencies representing an initial charge of ~ 600 USD ha⁻¹ (Figure II.3).

The establishment of producer groups could facilitate smallholders' access to credit (collective guarantee) and equipments (collective use). As illustrated by the history of CA in Brazil (Bolliger *et al.* 2006) and in line with Laos' recent policy decisions promoting agricultural cooperatives (GoL 2010), farmer-led organizations could provide a strong basis for the establishment of innovations like CA-based cropping systems. In particular, they could enhance local access to information, farm inputs and market channels and empower smallholders which are increasingly confronted to land speculators and large agribusinesses (Lestrelin *et al.* 2012a). Further devolution of land tenure and the establishment of land titles would also facilitate access to financial capital, allowing farmers to provide stronger guarantees to creditors. It could also contribute to encourage smallholders to engage in long-term agricultural investments. Increased involvement of the private sector and the development of contract farming arrangements, for example, could also enhance smallholders' access to financial capital and improve technical support.

Finally, the dissemination of CA-based farming systems could also be enhanced through payments for ecosystem services. Assessment of the services provided by CA is often largely based on socioeconomic indicators such as incomes, labour productivity and food security. Yet, as pointed out by Lal (2008), when integrated in broader agro-ecosystems, CA can contribute to producing various ecosystem services (e.g., sequestering soil organic C, enhancing water availability, strengthening nutrient cycling, increasing biodiversity). Obviously, additional research and experimentation would be needed to identify and, as far as possible, quantify the services that CA could actually provide in the particular context of the Plain of Jars. Reflections should also be engaged on the institutions and mechanisms that could be designed to monitor service provision and deliver payments. But an approach based on payments for ecosystem services could definitely be employed to encourage and/or reward smallholders' shift towards more sustainable agricultural practices.

5. Conclusion

Four years after the conversion of the native savannah grasslands into agricultural land, the evaluation, in controlled experimental plots, of CA vs. CT effects on soil productivity and system profitability shows that CA systems are leading to similar-to-higher grain production, similar-to-higher net income, higher opportunity of income diversification towards livestock production and higher labour productivity. On this basis, CA appears as a relevant option for the development of sustainable smallholder agriculture in the acid savannah grasslands of Laos. For this to happen however, broader institutional transformations would be needed, including: (i) the enrolment of manufacturers and traders for deploying NT implements, markets for cover crops and contract farming arrangements, (ii) long-term public support to the maintenance of active research and technical mentoring to farmers, and (iii) possibly the integration of payments for ecosystem services into agricultural policy. These transformations and supports are urgently needed to limit current large-scale land grabbing by private investors.

Acknowledgements

The authors would like to thank: the Department of Agriculture and Forestry of Xieng Khouang Province and the Ministry of Agriculture and Forestry for their commitment in CA experiments, the Sector-based Program in Agroecology (PROSA), the French Development Agency (AFD), the French Global Environment Facility (FFEM) and the French Ministry of Foreign Affairs for their financial support.

Chapitre 3

Evaluation environnementale de systèmes SCV *vs.* labour: effet sur les communautés microbiennes et le fonctionnement biologique des sols

Les résultats présentés dans le chapitre 2 permettent d'évaluer l'effet à court terme de systèmes SCV vs. labour sur la productivité des sols et les revenus agricoles. L'évaluation agroécologique de systèmes agricoles doit également permettre d'évaluer l'impact de ces systèmes sur les ressources supportant les activités agricoles (De schutter, 2011). Pour répondre à cet objectif, il est notamment nécessaire d'évaluer l'impact des modes d'usage agricoles sur les propriétés et le fonctionnement biologique des sols.

En contexte de grande culture mécanisée, les systèmes AdC/SCV ont montré un effet positif sur le contrôle de l'érosion (Montgomery, 2007), la stabilité des agrégats (Castro Filho et al. 2002 ; Six et al., 2002) et la préservation des teneurs en matières organiques des sols (Lal, 2002 et 2008). Ces systèmes ont également montré sur le long terme un impact positif sur les biomasses microbiennes telluriques (Kladivko 2001; Kaschuk et al. 2010). Comparativement, les études et données concernant l'impact de ces systèmes sur les propriétés physico-chimiques et le fonctionnement biologique des sols en contexte de petite agriculture peu mécanisée sont beaucoup plus limitées (Kassam et al., 2009). Par ailleurs, malgré le rôle essentiel des microorganismes du sol dans le fonctionnement biologique des sols, et plus largement dans les services écosystémiques que ces derniers fournissent, cette composante microbienne reste encore largement méconnue et souvent considérée comme une boîte noire en termes de diversité et de fonctionnalité (Ranjard et al., 2010).

Dans ce contexte, ce chapitre se propose d'évaluer :

- 1) l'impact, à l'échelle de la parcelle agricole, de systèmes SCV vs. labour sur les propriétés physico-chimiques, l'abondance et la structure génétique des communautés microbiennes des sols (partie 1),
- 2) l'impact plus spécifique de ces systèmes sur la diversité taxonomique des communautés de bactéries et de champignons (partie 2),
- 3) les liens fonctionnels existant entre les pratiques culturales, la diversité des communautés microbiennes et la dynamique du carbone (C) dans le sol (partie 3).

Ces trois parties sont chacune présentées sous la forme d'articles qui ont été acceptés pour publication dans deux revues différentes.

3.1. Effet sur l'abondance et la diversité des communautés microbiennes des sols

Ce chapitre est présenté sous la forme d'un article scientifique qui a été accepté pour publication dans la revue *Agronomy for Sustainable Development* (Lienhard et al. 2013, Volume 33, Issue 2, pp 375-384, DOI 10.1007/s13593-012-0099-4).

No-till and cover crops shift soil microbial abundance and diversity in Laos tropical grasslands

Pascal Lienhard^{1,2,3}, Florent Tivet^{1,2}, André Chabanne¹, Samuel Dequiedt^{3,4}, Mélanie Lelièvre^{3,4}, Sengphanh Sayphoummie⁵, Bounma Leudphanane⁵, Nicolas Chemidlin Prévost-Bouré^{3,6}, Lucien Séguy¹, Pierre-Alain Maron^{3,4} and Lionel Ranjard^{3,4*}

¹ CIRAD, UR SIA, F-34398 Montpellier cedex 5, France

² NAFRI, NCAC, PO Box 7170, Vientiane, Lao PDR

³ INRA, UMR1347 Agroécologie, BP 86510, F-21000 Dijon, France

⁴ INRA, Plateforme GenoSol, UMR1347 Agroécologie, BP 86510, F-21000 Dijon, France

⁵ PROSA / MAF, PO Box 10118, Vientiane, Lao PDR

⁶ AgroSup, UMR1347 Agroécologie, BP 86510, F-21000 Dijon, France

*Corresponding author Lionel Ranjard - E-mail: ranjard@dijon.inra.fr

Abstract Agricultural practices affect the physical and chemical characteristics of the soil, which in turn may influence soil microorganisms with consequences on soil biological functioning. However, there is little knowledge on the interactions between agricultural management, soil physicochemical properties and soil microbial communities, notably in tropical ecosystems with few studies conducted in strongly weathered and acid soils. Here, we investigated the early effect of tillage and crops residues management on top soil physical, chemical and microbial properties in an acid savannah grassland of north-eastern Laos. We initiated a 3-year rotation of rice / corn / soybean under three no-till systems (NTs) distinguished by the cover crops associated prior to and with the main crops, and one conventional tillage-based system (CT). The effect of agricultural management was evaluated two years after land reclamation in reference to the surrounding natural pasture (PAS). Our results demonstrate that NTs improve soil physico-chemical characteristics (aggregate stability, organic carbon and cation exchange capacity) as well as microbial abundance (total biomass, bacterial and fungal densities). A significant discrimination of the genetic structure of soil bacterial community was also observed between NTs, CT, and PAS. Interestingly, bacterial abundance and diversity were differently influenced by soil environment changes: microbial density was affected by the quantity and diversity of crop residues, soil organic carbon and exchangeable bases contents, whereas soil bacterial genetic structure was mainly determined by exchangeable aluminium content, pH, cation exchange capacity and C:N ratio. Altogether, our study represents one of the most complete environmental evaluations of agricultural practices in tropical agrosystems and leads to recommend no-till systems with high residue restitutions to improve the physical, chemical and microbial properties of tropical acid soils and thus contribute to the sustainability of agriculture in these ecosystems.

Keywords Tropical soil, microbial community, tillage, conservation agriculture, cover crop

1 Introduction

Soil microbial communities are responsible for a wide range of soil functions and ecological services, such as soil structure maintenance, organic matter turnover, and nutrient cycling (Dick 1992; Kladivko 2001). Among human activities, agricultural practices affect the physical and chemical characteristics of the soil in which microorganisms live, thereby affecting their abundance, diversity and activity (Dick 1992; Kladivko 2001; Bunemann et al. 2006; Nicolardot et al. 2007; Pascault et al. 2010). External agricultural inputs such as organic amendments (animal or green manure), mineral fertilizers and pesticides affect in different ways soil microorganisms (Dick 1992, Bunemann et al. 2006). Crop rotation and plant diversity are also important to maintain soil microbial diversity and activity (Nicolardot et al., 2007; Pascault et al. 2010). In conventional agriculture, tillage has generally the greatest impact on biological properties since physical disturbance changes soil water content, temperature, aeration, and the degree of mixing of crop residues within the soil matrix (Dick 1992; Buckley et al. 2001; Kladivko 2001). Tillage also reduces soil macroaggregate content which provides an important microhabitat for microbial density, diversity and activity (Ranjard and Richaume 2001; Six et al. 2002). In addition, tilling tools disturb fungal hyphal growth at soil surface leading to a reduction of their relative abundance in the soil (Frey et al. 1999; Balesdent et al. 2000).

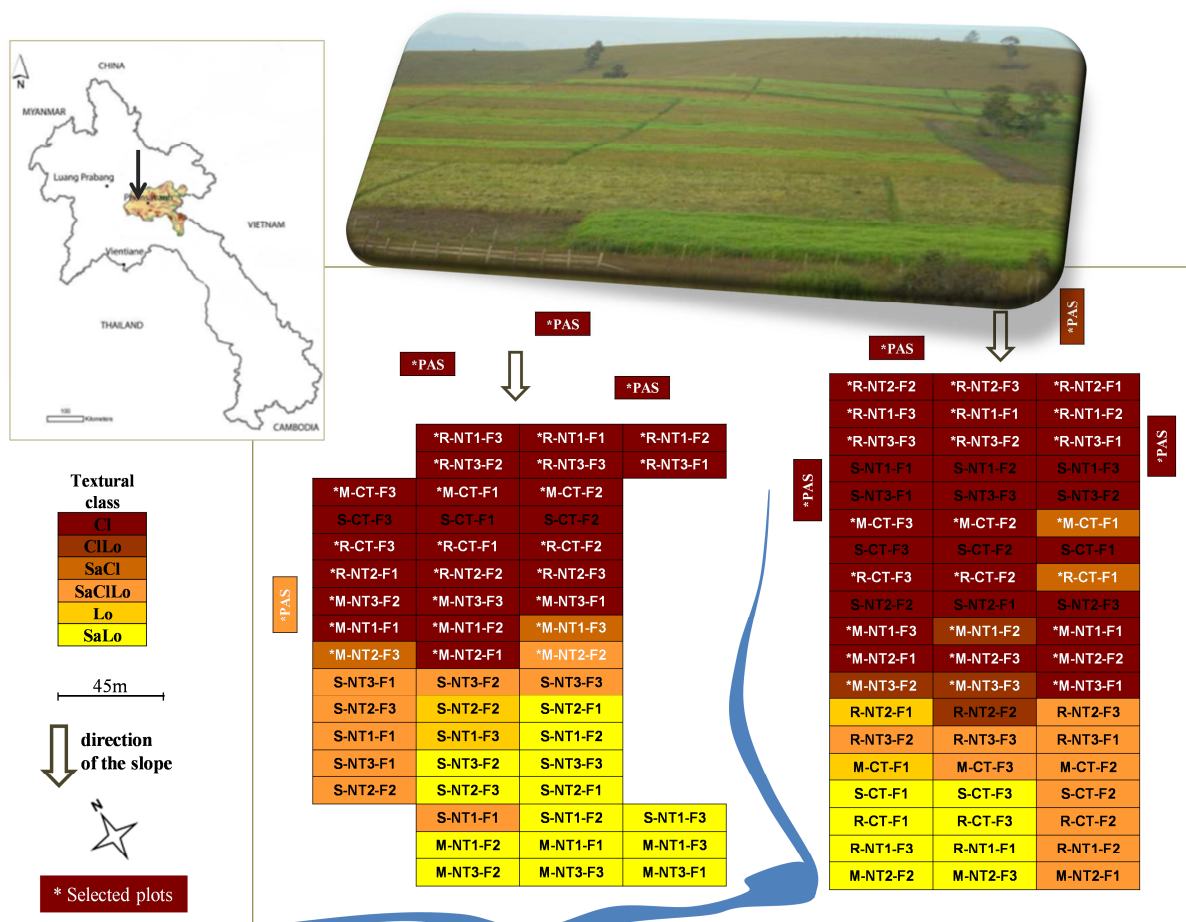
Based on the principle of minimal soil disturbance, no-till (NT) farming systems have been widely adopted in large-scale mechanized agriculture to prevent soil erosion and decrease production costs (Derpsh et al. 2010). Combined with maximal soil cover (mulch) and diversified crop sequences, NT systems have demonstrated in addition to have a positive impact on soil physical and chemical properties (Castro Filho et al. 2002; Six et al. 2002; Lal 2008), and on soil microbial biomass and activity (Kladivko 2001; Kaschuk et al. 2010; Sapkota et al. 2011). However, the adoption of no-till systems in small-scale agriculture is still low (Derpsh et al. 2010) with therefore little data available regarding their environmental impact on soils, notably in tropical grassland ecosystems, whereas the expansion of agriculture is a key challenge in these area to increase and sustain food production (Lal 2008). If the acid savannah grasslands of the world encompass vast areas of potentially arable land, they are however mostly considered marginal because of low inherent fertility and susceptibility to rapid degradation (IAEA 2000).

In addition, little is known about the impact of agricultural practices on soil microbial communities in tropical agrosystems, and their role in soil biological functioning. The recent development of culture-independent molecular tools based on soil DNA extraction and characterization and of *in silico* meta-analysis have enabled the systematic analysis of soil microbiota leading to a better understanding of the ecological impact of land use management (Maron et al. 2011). Despite these advances, the links between microbial communities and soil physicochemical properties as affected by agricultural practices are still a major challenge and especially in tropical ecosystems where no-till farming systems become an innovative and recurrent way of crop production.

In this context, our objective was to investigate the early effect of tillage systems and crops residues management on top soil physical, chemical and microbial properties in an acid tropical grassland ecosystem located in the western part of Xieng Khouang province, north-eastern Laos. For this purpose we initiated in 2008 a 3-year rotation of rice (*Oryza sativa* L.), corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* (L.) (Merr.) conducted under three no-till systems (NTs) distinguished by the cover crops associated prior to and with the main crops, and one conventional tillage-based system (CT) based on soil ploughing with discs and on the burying of crop residues. The impact of agricultural systems was evaluated two years after land reclamation in reference to the surrounding natural pasture (PAS). Molecular tools such as soil DNA concentration and real time quantitative PCR of bacteria and fungi were used as bioindicators to evaluate the effect of agricultural practices on soil microbial abundance (Dequiedt et al. 2011; Smith and Osborn 2009; Chemidlin et al. 2011). The genotyping of the soil bacterial community structure was assessed by a DNA fingerprinting approach, the automated ribosomal intergenic spacer analysis (ARISA) technique, that has been demonstrated to be sensitive and relevant for evaluating modifications in microbial community composition consecutive to land use management changes (Pascault et al., 2010; Lejon et al. 2007). The relationships between the soil physicochemical properties and the abundance and diversity of soil microbial communities were statistically tested to deduce an early environmental evaluation of these cropping systems.

Figure III.1 Experimental design. Starting crops in 2008 (3 modalities): R, rice variety Sebota1; M, maize hybrid LVN10; S, soybean variety Asca. Cropping systems (4 modalities): CT, conventional tillage based on annual soil ploughing with discs and burying of former crop residues; NT (1, 2 and 3), no-till systems with cover crops: finger millet (*Eleusine coracana* Gaern) and pigeon pea (*cajanus cajan*) associated prior to and with maize in NT1; finger millet and stylo (*stylosanthes guianensis* cv. CIAT 184) associated prior to and with maize in NT2; ruzi grass (*Brachiaria ruziziensis* cv. ruzi) and pigeon pea associated prior to and with maize in NT3; stylo associated with rice in all NT treatments; oat (*Avena sativa* L.) and buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) in succession of soybean in all NT treatments. Fertilization (3 modalities): F1, 60-80-60 kg.ha⁻¹.yr⁻¹ of N-P₂O₅-K₂O (N limited to 32 kg.ha⁻¹ for soybean), F2 : 120-160-120 kg.ha⁻¹.yr⁻¹ of N-P₂O₅-K₂O (N limited to 32 kg.ha⁻¹ for soybean); F3 : F2 during the two first years, F1 after that; N coming from urea (46% N), P₂O₅ from thermo phosphate (16% P₂O₅, 28% CaO, 18% MgO) and K₂O from KCl (60% K₂O). In addition, all agricultural treatments received an initial application of 2 Mg.ha⁻¹ of locally-produced lime (27% of CaO). PAS: surrounding natural pasture taken as reference treatment

* treatments selected for the study



2 Material and methods

2.1 Experimental site

The study was conducted in Poa village (Lat. 19°33'N, Long. 102°59' E) at 1,130 m AMSL. The climate is both tropical and mountainous with a 6-month (April-September) wet and hot season and a 6-month dry season including 3 months of cold (December-February). The mean annual precipitation is 1,400 mm. The soils at the site are red Oxisols with clay content decreasing gradually from the upper part (clayey soils, USDA classification) to the lower part (sandy-loamy soils) of the site. The 3-year rotation was conducted in a split-split plot experimental design combining three factors (Figure III.1) with 3 replications of 270 m² each for a total of 108 sub-sub-plots.

For the present study, we limited our sampling to the upper part of the site (clay dominant soils, total of 12 independent replicates per tillage system, in white font in Figure III.1) since previous studies have shown soil texture as a major factor in explaining soil microbial diversity distribution (Martiny et al. 2006; Dequiedt et al. 2011). We thus decided to minimise the influence of this factor in order to highlight the differences related to agricultural management. The natural surrounding pastureland (PAS) was taken as reference treatment (8 replicates).

2.2 Estimations of stubble restitutions

We used the cumulated amount of stubble returns as a quantitative indicator of organic inputs, and the percentage of broad leaf species in crops residues returns as a qualitative indicator of organic inputs (Table III.1). Stubble production, including associated crop and weed contributions, were estimated twice a year: at main crop harvests and before land preparation. Measures were made in each plot on six subplots of 4 m² each randomly chosen. A random lump crop residue sample of 2 kg was taken from the six subplots to determine dry biomass. Grain yields were measured on each total plot area (270 m²).

2.3 Soil sampling

The soil was sampled at 0-10cm depth, in June 2009, during the second year of the rotational sequence. For soil chemical and microbial analysis, a composite sample was made of a pool of five sub-samples taken in the diagonal of the plot (50 m). For soil bulk density and soil

aggregate stability determination, randomized triplicates were taken for each plot (total of 36 independent replicates per cropping system and 24 replicates for the natural pastureland).

2.4 Soil physical and chemical analysis

We used the mean weight diameter (MWD) of aggregates as an indicator of soil aggregate stability. Aggregate size classes were separated by wet sieving, following a procedure described by Castro Filho et al. (2002). Briefly, soil samples were passed through a 19 mm mesh sieve, and clods >19 mm were softly broken along their natural cleavage planes and were stored in polystyrene boxes to prevent moisture loss and excessive drying. Samples were then wet-sieved in laboratory through a series of six sieves (8, 4, 2, 1, 0.5 and 0.25 mm). Aggregate separation was achieved by agitation (3.5 cm amplitude, 30 rotations per minute for 10 minutes). MWD was calculated as follow:

$$\text{MWD} = \sum_{i=1}^n x_i w_i$$

where w_i is the relative weight of each aggregate class in relation to the whole and x_i is the mean diameter of the considered class (mm).

The soil bulk density (ρ_b) was used as an indicator of soil porosity, and measured on oven dried (24h, 105°C) undisturbed soil samples by using a 94 cm³ density cylinder.

All soil chemical analyses were done by the CIRAD laboratory in Montpellier, France. Soil organic carbon (SOC) and total nitrogen (N) were used as indicators of soil organic status and quantified by dry combustion. Soil pH (1:5 soil/water slurry), available phosphorus (P) (Olsen method), Cation Exchange Capacity (CEC) (cobalt hexamine chloride reagent), sum of exchangeable bases (Ca, Mg, K, Na) and exchangeable Aluminum (Al) were used as indicators of soil acid-base and nutrient status.

2.5 Soil molecular microbial abundance analysis

We used soil crude DNA concentrations as estimates of microbial biomass since a highly positive linear relationship has been shown between soil DNA recovery and C-biomass measurement, this latter being indicative of the size of microbial biomass (Marstorp et al. 2000; Dequiedt et al., 2011). Soil microbial DNA was extracted and estimated on 2g (dry weight) of soil using a single procedure developed by Ranjard et al. (2003) and recently optimized and standardized by the GenoSol platform (INRA, Dijon, France). DNA concentrations of crude

extracts were determined by electrophoresis in a 1% agarose gel using a calf thymus DNA standard curve.

We estimated fungal and bacterial densities by real time quantitative polymerase chain reaction (qPCR) of ribosomal DNA (rDNA). This approach has recently become a valuable, accurate and culture-independent molecular tool for quantifying soil bacterial and fungal abundance (Smith and Osborn 2009, Chemidlin et al. 2011). We amplified 18S rDNA sequences, which are specific to fungi, on 2.5 ng purified soil DNA using FR1 and FF390 primers and qPCR mix SYBr®Green as described by Chemidlin et al. (2011). For bacteria, we amplified a 16S rDNA sequence using primers 341F and 515R and 2 ng purified soil DNA, as suggested by Smith and Osborn (2009). Real time qPCRs were performed using the Gene AmpPCR system 9700 (Applied biosystems®).

2.6 Soil bacterial community genetic structure analysis

The bacterial community structure was assessed using the Bacterial Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis (B-ARISA) method (Ranjard et al., 2003). Briefly, 12.5 ng DNA were used as template to amplify the bacterial ribosomal intergenic spacer by PCR. PCR products were purified using the MinElute Kit (QIAGEN®) and quantified using smart ladder (Eurogentec®). PCR fragments were resolved on a LiCor® DNA sequencer (ScienceTec) under denaturing conditions as described in Lejon et al. (2007). Profils were analyzed using the 1D-Scan® software (ScienceTec), converting fluorescence data into electrophoregrams, where peaks represented PCR fragments and the height of the peaks the relative proportion of the fragments in the total products. Lengths (in base pairs) were calculated by using a size standard with bands ranging from 200 to 1 659 bp.

2.7 Statistics

The effect of land use management on quantitative parameters was tested by the non parametric Kruskal–Wallis test performed under XLSTAT software (Addinsoft®). Differences between means were tested by paired multiple comparison with Bonferroni correction ($P < 0.05$). Microbial genetic structure data obtained from the 1D-Scan software were converted into a table summarizing the band presence (*i.e.* peak) and intensity (*i.e.* height or area of peak) using the PrepRISA software (Ranjard et al., 2003) under R free software version 2.10.1. Principal

Component Analysis (PCA), between group analysis (BGA) and coinertia analysis were performed using the ADE-4 software (Thioulouse et al. 1997) under R software and provided an ordination of data in factorial maps based on the scores of the first two principal components. Monte Carlo tests were performed with 1.000 permutations to confirm the significance of the discriminated clusters.

3 Results and discussion

3.1 Early effect on top soil physicochemical characteristics

After two years of native grassland conversion to agriculture, we observed significant modifications of top soil physical and chemical characteristics. Soil aggregate stability decreased (MWD in Table III.1) along the gradient NTs > PAS > CT and was positively correlated with the total amount of stubble restituted, soil organic carbon (SOC), total soil nitrogen, and fungal and bacterial densities (Figure III.2). Our results highlight the role of fresh plant and root derived residues, SOC and microbial binding agents (*e.g.*, fungal hyphae, polysaccharides) in enmeshing soil particles, in concordance with other studies (Six et al. 2002). Contrary to Bossuyt et al. (2001), we found that the diversity of residues also influenced macroaggregation positively with significant correlations between the mean weight diameter of aggregates and the percentage of broad leaf species in stubble restitutions (Figure III.2). In addition, the macroaggregate disruption process observed under CT, with aggregate size values decreased by 19% compared to PAS (Table III.1), might be mostly related to the direct action of tilling tools, the aggregates being submitted to compressive and shearing forces during tillage (Balesdent et al. 2000; Six et al. 2002).

Early modifications of top soil porosity were also observed, with higher bulk density values under NT compared to PAS (Table III.2) which might be related to the compacting effect of agricultural equipment occurring during crop rolling and sowing operations. This compacting effect was not observed under CT due to the annual tillage which induced soil mechanical fragmentation.

Table III.1 Top soil (0-10cm layer) physicochemical characteristics and crop residues returns according to land use management (56 plots). PAS, natural pastureland; CT, conventional tillage; NT (1, 2 and 3), no-till systems. MWD, mean weight diameter of aggregates; SOC, soil organic carbon; C:N, carbon to nitrogen ratio; Σ base, sum of exchangeable bases (Ca, Mg, K and Na); CEC, cation exchange capacity; Stubble: 2007 and 2008 cumulated stubble dry matter returns; Broad leaf species include weeds, shrubby (e.g. pigeon pea), and thin leaf (e.g. stylo) legumes. Letters between brackets indicate significant differences according to Kruskal-Wallis test ($P < 0.05$), Bonferroni correction

Tillage system	Clay (%)	Sand (%)	MWD (mm)	Bulk density (g.cm ⁻³)	pH H ₂ O (1:5)	SOC (g.kg ⁻¹)	Total N (g.kg ⁻¹)	C:N	P Olsen (mg.kg ⁻¹)	Exch. Al (c mol.kg ⁻¹)	Σ base (c mol.kg ⁻¹)	Effec. CEC (c mol.kg ⁻¹)	Stubble (Mg.ha ⁻¹)	Broad leaf (%)
PAS	46 ± 11 [a]	29 ± 13 [a]	8.5 ± 0.6 [b]	1.27 ± 0.03 [a]	5.3 ± 0.2 [ab]	33.8 ± 3.0 [ab]	2.4 ± 0.2 [b]	13.8 ± 0.5 [a]	2.7 ± 0.5 [a]	1.2 ± 0.3 [c]	1.0 ± 0.3 [a]	2.7 ± 0.6 [a]	5.1 ± 1.0 [a]	<1 [a]
CT	52 ± 6 [a]	33 ± 7 [a]	6.8 ± 1.0 [a]	1.27 ± 0.07 [a]	5.2 ± 0.1 [a]	31.4 ± 1.6 [a]	2.1 ± 0.2 [a]	15.0 ± 0.8 [b]	7.8 ± 2.7 [b]	0.2 ± 0.2 [b]	2.9 ± 0.6 [b]	3.4 ± 0.5 [ab]	5.6 ± 1.3 [a]	3 ± 2 [a]
NT1	47 ± 6 [a]	35 ± 9 [a]	10.0 ± 0.6 [c]	1.34 ± 0.06 [ab]	5.4 ± 0.2 [ab]	36.5 ± 2.5 [b]	2.5 ± 0.2 [b]	14.7 ± 0.6 [ab]	8.3 ± 2.2 [b]	0.1 ± 0.1 [a]	4.7 ± 1.2 [c]	5.2 ± 1.3 [c]	10.6 ± 3.1 [b]	18 ± 4 [b]
NT2	46 ± 7 [a]	36 ± 8 [a]	9.7 ± 1.0 [c]	1.36 ± 0.07 [b]	5.4 ± 0.2 [ab]	35.1 ± 4.7 [b]	2.4 ± 0.4 [ab]	14.8 ± 0.9 [b]	8.8 ± 2.2 [b]	0.1 ± 0.1 [a]	4.3 ± 1.2 [c]	4.6 ± 1.2 [bc]	10.9 ± 3.1 [b]	20 ± 12 [b]
NT3	50 ± 6 [a]	32 ± 7 [a]	10.1 ± 0.9 [c]	1.36 ± 0.04 [b]	5.5 ± 0.2 [b]	36.4 ± 2.6 [b]	2.4 ± 0.2 [b]	14.9 ± 0.5 [b]	9.2 ± 2.4 [b]	0.1 ± 0.1 [a]	4.9 ± 1.3 [c]	5.3 ± 1.5 [c]	12.8 ± 2.8 [b]	5 ± 2 [a]

Figure III.2 Correlation matrix (Spearman) of the principal component analysis (PCA) performed on soil physicochemical parameters. Land use management impacts on organic input and microbial abundance variables were added as additive variables (in grey). Values in bold character are significantly different from 0 at $P < 0.05$ (52 plots). SOC, soil organic carbon; TN, total nitrogen; C:N, carbon to nitrogen ratio; P, available phosphorus; Base, sum of exchangeable bases; Al, exchangeable Aluminum; CEC, cation exchange capacity; ρ_b , bulk density; MWD, mean weight diameter; Stub, total amount of stubble returns; Leg, percentage of broad leaf species in Stub; qDNA, molecular microbial biomass; B16S, molecular bacterial density; F18S, molecular fungal density; F:B, fungal to bacterial ratio. Letters in brackets indicate significant differences according to Kruskal-Wallis test ($P < 0.05$), Bonferroni correction

pH																	
SOC	0.18																
TN	0.05	0.88															
C:N	0.13	-0.07	-0.48														
P	0.33	0.15	-0.09	0.48													
Base	0.48	0.57	0.45	0.05	0.59												
Al	-0.63	-0.30	-0.12	-0.29	-0.61	-0.82											
CEC	0.47	0.59	0.50	-0.01	0.52	0.98	-0.76										
ρ_b	0.26	0.23	0.05	0.21	0.26	0.43	-0.49	0.41									
MWD	0.40	0.45	0.38	-0.02	0.28	0.56	-0.52	0.55	0.28								
Stub	0.46	0.63	0.50	0.02	0.44	0.80	-0.75	0.77	0.43	0.68							
Leg	0.22	0.42	0.20	0.29	0.38	0.59	-0.52	0.52	0.37	0.46	0.48						
qDNA	0.12	-0.01	-0.10	0.13	-0.03	-0.04	0.04	-0.01	0.06	0.15	-0.11	0.12					
B16S	0.21	0.40	0.25	0.07	0.14	0.32	-0.33	0.27	0.26	0.40	0.39	0.49	0.57				
F18S	0.22	0.22	0.02	0.21	0.02	0.13	-0.25	0.09	0.24	0.35	0.24	0.44	0.51	0.83			
F:B	0.07	-0.19	-0.34	0.32	-0.17	-0.30	0.11	-0.29	-0.01	-0.04	-0.21	-0.04	0.02	-0.12	0.36		
	pH	SOC	TN	C:N	P	Base	Al	CEC	ρ_b	MWD	Stub	Leg	qDNA	B16S	F18S	F:B	

Regarding top soil organic status, a significant decrease of soil organic carbon (SOC) content along the gradient $NTs \geq PAS > CT$ for (Table III.1) was classically recorded. SOC was positively and highly correlated with soil total nitrogen (N) content, the total amount of stubble returns, the percentage of broad leaf species in restitutions, and the aggregates stability (Figure III.2). As for organic status, early modifications of soil acid-base and mineral nutrient status were also observed, with a positive impact of inorganic fertilizer use on soil nutrient availability in cropping system. Indeed, all cultivated treatments showed significant increases in CEC, total exchangeable bases and available phosphorus (P), as well as a related-decrease in exchangeable Aluminum (Al) content (Table III.1). The comparative analysis of the cropping systems, however, appeared in favor of NTs, with 1.5-fold higher exchangeable bases and CEC content under NTs than under CT (Table III.1).

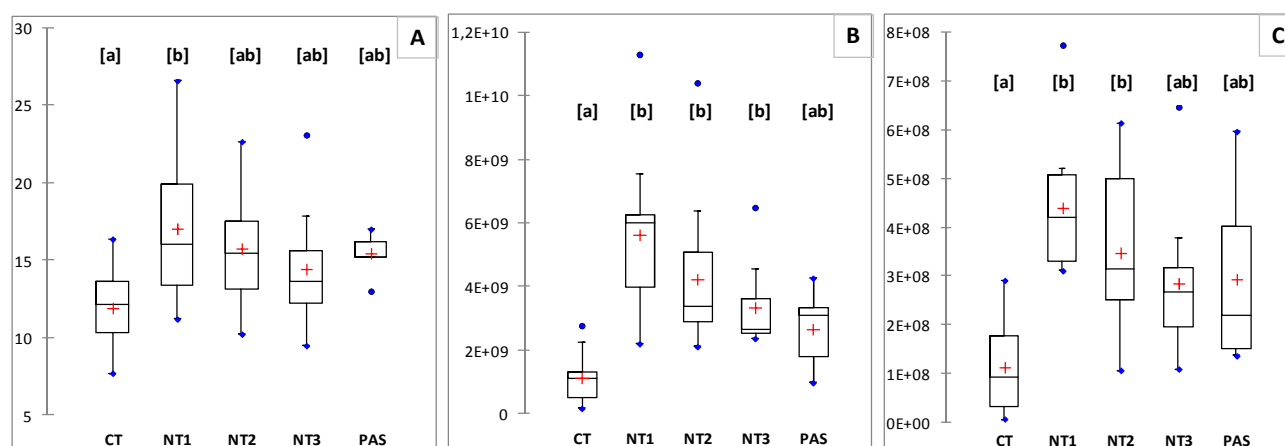
Altogether, the evaluation of the impact of agricultural systems on top soil physicochemical parameters highlighted early but classical modifications in favour of no-till systems which induced a significant increase of top soil aggregate stability and soil organic carbon (SOC) content, and higher nutrients availability. However, these early changes did not impact soil productivity with similar crop growth and grain yields observed in 2008 (data not shown), this latter being certainly related to good physical (aggregate stability) and organic (SOC content) characteristics of soils before land reclamation as estimated by the natural pasture characteristics, and by the limited time of cultivation at evaluation (two years).

3.2 Early effect on soil microbial abundance

DNA yields, which were used as estimates of microbial biomass, decreased similarly along the gradient $NT1$ (mean value of $16.6 \mu\text{g}$ of DNA g^{-1} of soil) $> NT2, NT3$ and $PAS > CT$ ($11.9 \mu\text{g}$) (Figure III.3A). No significant correlation could be established between soil physicochemical parameters and molecular biomass (Figure III.2). This could be related to the high variability observed within replicates regarding physicochemical and textural characteristics (see standard deviations in Table III.1), and microbial biomass (Figure III.3A) which makes the significant discrimination between treatments difficult. This could also be linked to a low sensitivity of the method when confronted with the limited amplitude of soil physicochemical variations in relation with the limited time of cultivation (two years). Indeed, in more contrasted situations, soil organic carbon (SOC) and nitrogen content, CEC and pH have been reported as important parameters

influencing microbial biomass (Martiny et al. 2006; Lejon et al. 2007; Dequiedt et al. 2011). Finally, microbial biomass might be more discriminated by other factors than those monitored. Tillage affects soil temperature and humidity which in turn strongly influence soil microbial biomass (Frey et al. 1999; Spedding et al. 2004), and could explain the lowest microbial biomass observed in tilled system.

Figure III.3 Top soil (0-10cm layer) box and whisker representation of: A) Molecular biomass (in μg of DNA.g⁻¹ of soil), B) Bacterial density (copy of 16SrDNA g⁻¹ of soil) and C) Fungal density (copy of 18SrDNA g⁻¹ of soil) (52 plots) recorded in PAS, natural pastureland; CT, conventional tillage; and NT (1, 2 and 3), no-till systems. The first (Q1), median, and third (Q3) quartiles are indicated by the bottom, the central, and the top line of the box respectively. The bottom whisker extends to the lowest value of the data set while the top whisker extends to the highest one. Outliers are indicated by points. Letters in brackets indicate significant differences according to Kruskal-Wallis test ($P < 0.05$), Bonferroni correction



The number of copies of 16SrDNA and 18SrDNA, which were used as estimates of bacterial and fungal molecular densities, respectively, decreased significantly along the gradient NT1 and NT2 > NT3 and PAS > CT (Figure III.3B and 3C). After two years of cultivation, bacterial and fungal densities were respectively 5 and 4-fold higher under NT1 than under CT, confirming the high sensitivity and reactivity of these communities to land use management and soil environmental changes (Frey et al. 1999; Lauber et al. 2008; Rousk et al. 2010).

Tillage appears to be a major factor influencing both bacterial and fungal densities with main significant differences observed between tilled (CT) and no-tilled (NTs and PAS) treatments (Figure 3B and 3C). Tillage induced a decrease in soil organic carbon (SOC) (Table III.1), this latter being positively correlated with bacterial density (Figure III.2). Similarly, tillage induced a reduction of soil aggregate stability and soil macroaggregate content (Table III.1), which was also positively correlated with both fungal and bacterial densities (Figure III.2), confirming the importance of macroaggregates as microhabitat for microorganisms (Ranjard and Richaume, 2001).

In addition, tillage has been demonstrated to affect soil temperature and humidity (Frey et al. 1999), which in turn strongly influence soil microbial abundance and in particular fungal development (Frey et al. 1999; Spedding et al. 2004). Finally, tillage causes direct tissue damage to the fungi leading to a reduction in their abundance at soil surface (Balesdent et al. 2000; Six et al. 2002).

Crop residue diversity appeared as the second main factor influencing both bacterial and fungal densities since the numbers of copies of 16SrDNA and 18SrDNA were significantly and positively correlated with the percentage of broad leaf species in stubble returns (Figure III.2). The gradient observed regarding the diversity of crop residues, with about 20% broad leaf species in restitutions for NT1 and NT2 versus less than 5% for NT3 and PAS (Table III.1), fits with the differences in bacterial and fungal densities observed among no-tilled treatments (Figure III.3B and 3C). Finally, bacterial density also appeared to be influenced by other trophic parameters with significant and positive correlations found in the total amount of stubble returns and soil exchangeable base content (Figure III.2).

In comparison to the natural pastureland (PAS), the higher amount of stubble returns and soil exchangeable base content (Table III.1) under no-till systems (NTs) might help explain the difference in bacterial density observed between NTs and PAS (Figure III.3B). Altogether, our results highlighted the different processes driving soil bacterial and fungal density changes: bacterial density mainly appeared influenced by trophic factors (e.g., diversity and quantity of crop residues, SOC, sum of exchangeable bases) while fungal density appeared influenced by both trophic (e.g., diversity of crop residues) and atrophic factors (e.g., direct tissue damage by tilling tools, soil moisture content).

We did not find any significant difference in the fungal to bacterial (F:B) ratio among treatments (data not shown). F:B ratio is a widely used metric tool to assess the impact of environmental change on soil microbial community structure and functioning (Strickland et al. 2009). Our results are not in agreement with Klavivko (2001) who proposed that no-till systems (NTs) would result in a fungal-dominated system instead of the bacterial-dominated system expected under conventional tillage practices. Several studies reported an increase in F:B ratio due to a higher response of fungal biomass to increased soil moisture under NTs (e.g., Frey et al. 1999; Spedding et al. 2004), and/or to the suppression of hyphal growth disturbance by tillage (Frey et al. 1999; Balesdent et al. 2000). On the other hand, our results are in agreement with the review of

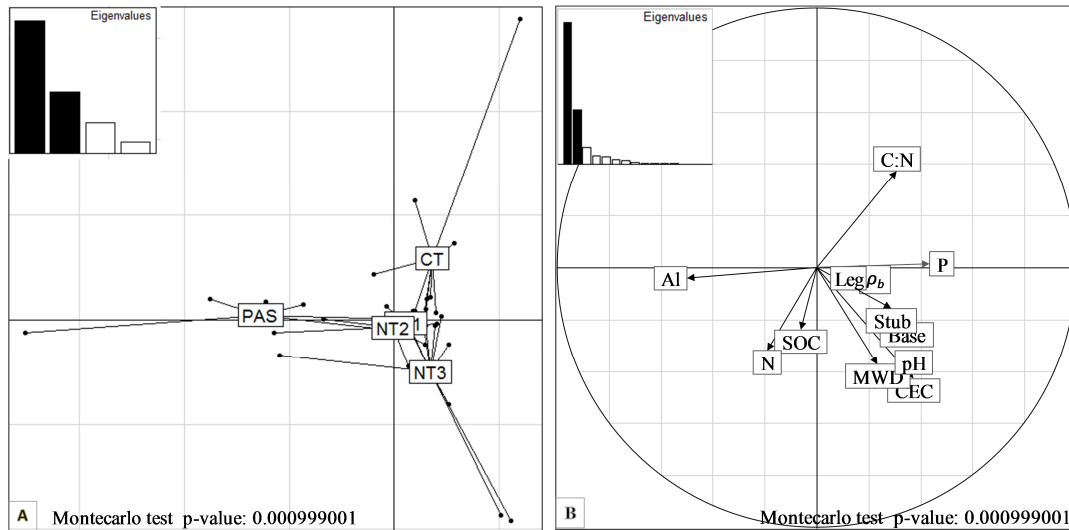
Strikland et al. (2009) who reported empirical evidence in support of such impacts on F:B dominance are still far from generic.

3.3 Early effect on soil bacterial genetic structure

Using principal component analysis with between group analysis performed on bacterial automated ribosomal intergenic spacer analysis (B-ARISA) fingerprints, we found four discriminated genetic structure of indigenous bacterial communities under: (i) NT3, (ii) NT1 and NT2, (iii) CT, and (iv) PAS (Figure III.4A), these four classes being significantly different according to the Monte Carlo test (1,000 permutations, p-value <0.001). A higher discrimination in bacterial communities was observed between non-cultivated and cultivated plots, discriminated on the first axis, than between agricultural treatments, discriminated on the second axis. This distinction between non-cultivated and cultivated soil might increase in the coming years since Buckley et al. (2001) reported higher microbial community structural differences between cultivated and never-cultivated soils, than between cultivated soils showing different cultivation and plant community histories. The low but significant differences in bacterial genetic structure observed between NTs and CT might be related to the limited duration of cultivation (two years) at evaluation.

Using coinertia analysis between B-ARISA fingerprints and physicochemical parameters, we found that the main factors influencing the bacterial genetic structural changes amongst land use managements (Figure III.4B) were different from those influencing microbial abundance. The first axis of the coinertia factorial map (PC1) showed a significant difference (Monte Carlo test p-value <0.001) between non-cultivated and cultivated plots according to soil exchangeable aluminum (Al) and available phosphorus (P), the bacterial genetic communities under PAS appearing strongly related to high Al content. The second axis of the factorial map showed an ordination of cultivated soils according to soil pH, nutrient content (CEC, total exchangeable bases), the mean weight diameter (MWD) of aggregates and soil carbon to nitrogen (C:N) ratio. The early changes in bacterial genetic structure under NT3 were related to an increase in pH, nutrient availability, and MWD as compared to NT1, NT2, and CT (Table III.1). By contrast the early changes observed under CT were more related to a decrease in pH, nutrient availability, MWD and an increase in C:N ratio (Table III.1).

Figure III.4 Factorial maps of: a) Bacterial community genetic structure (Principal component analysis of B-ARISA fingerprints, between group analysis). b) Correlation circle of the coinertia analysis performed between the PCA of B-RISA fingerprints and the PCA of soil physicochemical characteristics (52 plots). PAS: natural pastureland; CT: conventional tillage; NT (1, 2 and 3): no-till systems. SOC, soil organic carbon; N, total nitrogen; C:N, carbon to nitrogen ratio; P, available phosphorus; Base, sum of exchangeable bases; Al, exchangeable Aluminum; CEC, cation exchange capacity; ρ_b , bulk density; MWD, mean weight diameter; Stub, cumulated amount of stubble returns; Leg, percentage of broad leaf species in Stub



Our results are in agreement with several studies that describe pH as the main discriminating factor of bacterial diversity (Grayston et al. 2004; Martiny et al. 2006; Fierer et al. 2009). Variations of C:N ratios have been shown to explain shifts in F:B ratio (Fierer et al. 2009) and bacterial genetic structure in vineyard soils (Lejon et al. 2007). However, no reference was found regarding the effect of soil available P, Al content and/or CEC changes on bacterial genetic structure. While we show that the quality of crop residues strongly influenced bacterial abundance, this factor did not appear influent regarding bacterial community structural changes, contrary to other studies (Nicolardot et al. 2007; Pascault et al. 2010). Finally, tillage could partly explain the differences in bacterial genetic structure observed between conservation (NTs) and conventional (CT) cropping systems, by modifying microbial access to crop residues and soil moisture content (Nicolardot et al. 2007).

4 Conclusion

In an acid tropical grassland environment, our results show that no-till (NTs) and conventional tillage (CT) farming systems both induced early but different modifications in top soil properties in reference to the natural pasture (PAS): NTs increased aggregate stability and soil organic carbon content, enhanced nutrient availability and microbial biomass as a result of a simultaneous increase of fungal and bacterial densities. We also showed a significant discrimination of soil microbial community structures between NTs, CT, and PAS. In addition, bacterial abundance and diversity appeared to be differently driven by soil environment changes: bacterial density was affected by the quantity and diversity of crop residues, soil organic carbon and exchangeable base content, whereas soil bacterial genetic structure was influenced by soil exchangeable Al content, pH, CEC, and soil C:N ratio, all these parameters being affected by tillage, residue management and soil organic and inorganic amendments. As an application of our results, we recommend no-till systems with high residue restitutions and lime amendment in order to improve the physical, chemical, and microbial properties of tropical acid soils, and thus contribute to the sustainability of agricultural systems.

Acknowledgements. The authors would like to thank the Sector-Based Program in Agroecology (PROSA), the French Development Agency (AFD), the French Global Environment Facility (FFEM) and the French Ministry of Foreign Affairs for their financial support. We would like also to thank the Department of Agriculture and Forestry of Xieng Khouang Province and the National Agriculture and Forestry Research Institute for their technical support, along with Mrs. Cécile Fovet-Rabot for her comments.

3.2. Impact des systèmes SCV vs. Labour sur la diversité taxonomique bactérienne et fongique des sols

Ce chapitre est présenté sous la forme d'un article scientifique qui a été accepté pour publication dans la revue *Agronomy for Sustainable Development* (Lienhard et al., 2013 ; DOI: 10.1007/s13593-013-0162-9).

Pyrosequencing evidences the impact of cropping on soil bacterial and fungal diversity in Laos tropical grassland

Pascal Lienhard^{1,2,3}, Sébastien Terrat^{3,4}, Nicolas Chemidlin Prévost-Bouré³, Virginie Nowak^{3,4},
Tiffanie Régnier⁴, Sengphanh Sayphoummie⁵, Khamkéo Panyasiri², Florent Tivet¹, Olivier
Mathieu⁶, Jean Levêque⁶, Pierre-Alain Maron^{3,4} and Lionel Ranjard^{3,4*}

¹ CIRAD, UR SIA, F-34398 Montpellier cedex 5, France

² NAFRI, NCAC, PO Box 7170, Vientiane, Lao PDR

³ INRA-Université Bourgogne, AgroSup Dijon, UMR 1347 Agroécologie, BP 86510, F-21000
Dijon, France

⁴ INRA-Université Bourgogne, AgroSup Dijon, UMR1347 Agroécologie, Plateforme GenoSol, BP
86510, F-21000 Dijon, France

⁵ PROSA / MAF, PO Box 10118, Vientiane, Lao PDR

⁶ UMR Biogeoscience, plateforme ISOTOP, F-21000 Dijon, France

*Corresponding author Lionel RANJARD - E-mail: ranjard@dijon.inra.fr

Abstract. It is widely assumed that agricultural practices have a major impact on soil living organisms. However the impact of agricultural practices on soil microbes is poorly known, notably for species richness, evenness and taxonomic composition. The taxonomic diversity and composition of soil indigenous microbial community can be assessed now using pyrosequencing, a high throughput sequencing technology applied directly to soil DNA. Here, we studied the effect of agriculture management on soil bacterial and fungal diversity in a tropical grassland ecosystem of north-eastern Laos using 454-pyrosequencing of 16S and 18SrRNA genes. We studied soil microbial diversity of agricultural soils 3 years after conversion from native grasslands. We compared 5 systems: 1 tillage, 2 no-tillage rotational, 1 no-tillage improved pasture and 1 natural grassland. Our results show first that compared to the natural grassland, tillage decreases fungal richness and diversity by -40% and -19% respectively, and increases bacterial richness and diversity by +46% and +13% respectively. This finding evidences an early impact of agricultural management on soil microbial diversity. A such impact fits with the ecological concept of "intermediate perturbation" – the hump backed model - leading to classify agricultural practices according to the level of environmental stress they generate. We found also that land use modified soil microbial taxonomic composition. Compared to the natural pasture, tillage decreased notably the relative abundance of *Actinobacteria* (by -6%), *Acidobacteria* (by -3%) and *Delta-proteobacteria* (by -4%) phyla, and by contrast increased the relative abundance of *Firmicutes* (by +6%), *Gamma-proteobacteria* (by +11%) and *Chytridiomycota* (+2%) phyla. We conclude that soil microbial diversity can be modified and improved by selecting suitable agricultural practices. Moreover no-till systems represented intermediate situations between tillage and the natural pasture and appear therefore as a fair trade-off between the need for agriculture intensification and soil ecological integrity preservation.

Keywords microbial diversity, soil metagenomics, pyrosequencing, conservation agriculture, tillage, acid savannah.

1. Introduction

Among human activities, agricultural practices strongly affects soil microbial communities by changing the physical and chemical characteristics of the soil in which microorganisms live, thereby affecting their abundance, diversity and activity (Kladivko 2001, Govaerts et al. 2007). Agricultural inputs (e.g., organic amendments, mineral fertilizers and pesticides), crop rotation, and plant diversity affect soil microorganisms in different ways (Buneman et al. 2006, Nicolardot et al. 2007, Pascault et al. in press). However, in conventional agriculture, tillage generally has the greatest impact on biological properties since physical disturbance changes soil water content, temperature, aeration, and the degree of mixing of crop residues within the soil matrix (Kladivko 2001, Six et al. 2006). Tillage also reduces soil macroaggregate content (Tivet et al. 2013), which provides an important microhabitat for microbial populations (Ranjard and Richaume 2001). Based on the principle of minimal soil disturbance, no-till farming systems have been widely adopted in large-scale mechanized agriculture to prevent soil erosion and decrease production costs (Derpsh et al. 2010). Combined with soil cover (mulch) and diversified crop rotation, no-till systems are also being advocated over tillage for enhancing soil health and long term crop productivity (Govaerts et al. 2007).

Up to date, the effects of agricultural practices and more widely of cropping intensity were mostly evaluated on soil microbial abundance and structure by using classical tools based on the cultivability of microorganisms as well as on their physiological and biochemical properties (Kladivko 2001, Kandeler 2007). However, these techniques were strongly limited in their sensibility and exhaustivity to give an accurate overview of quantitative and qualitative modifications of soil microbial communities (Maron et al. 2010). The recent development of culture-independent molecular tools, and especially of high throughput sequencing technology (pyrosequencing), allows obtaining thousands of sequences from a single soil DNA sample which may helped better assessing the huge diversity of soil microbial communities (Roesch et al. 2007, Terrat et al. 2011). Metagenomic analysis should facilitate the deciphering of taxonomic and functional assemblages of indigenous communities in natural environments, together with their roles in the biological functioning of ecosystems (Maron et al., 2010). To date, this approach has been poorly used to evaluate the impact of agricultural practices on soil microbial communities, hence limiting our interpretation of soil microbial taxonomic diversity changes, and their significance in terms of soil ecological status and potential functioning in agrosystems.

In a previous study, we showed that tillage systems and cover crops rapidly affected soil microbial abundance and genetic structure in a tropical grassland ecosystem of north-eastern Laos (Lienhard et al. 2013). However, the genotyping techniques used were unable to accurately characterize the full diversity of the telluric microbial communities. Consequently, they could not narrow the knowledge gap concerning the distribution and diversity (in terms of species richness and evenness) of indigenous microbial species in response to soil disturbance and cropping intensity.

In this study, our objective was to deepen the effect of agricultural management on soil microbial diversity by using a metagenomic approach. More precisely, our study aims at inventorying the diversity of both soil bacterial and fungal communities using new generation sequencing technology on soil DNA. For this, we compared soils coming from five contrasted land use management systems (one tillage-based and two no-till rotational cropping systems, one no-till improved pasture and the natural surrounding pasture), three years after the conversion of native grassland into agricultural land.. Soil bacterial and fungal diversity were evaluated by 454 pyrosequencing of 16S and 18S rRNA genes, respectively. The analysis of microbial diversity changes, and notably the changes in particular taxonomic groups' distribution, was used to evaluate agricultural systems effect on soil ecological status.

2. Material and methods

2.1. Experimental site and land use management

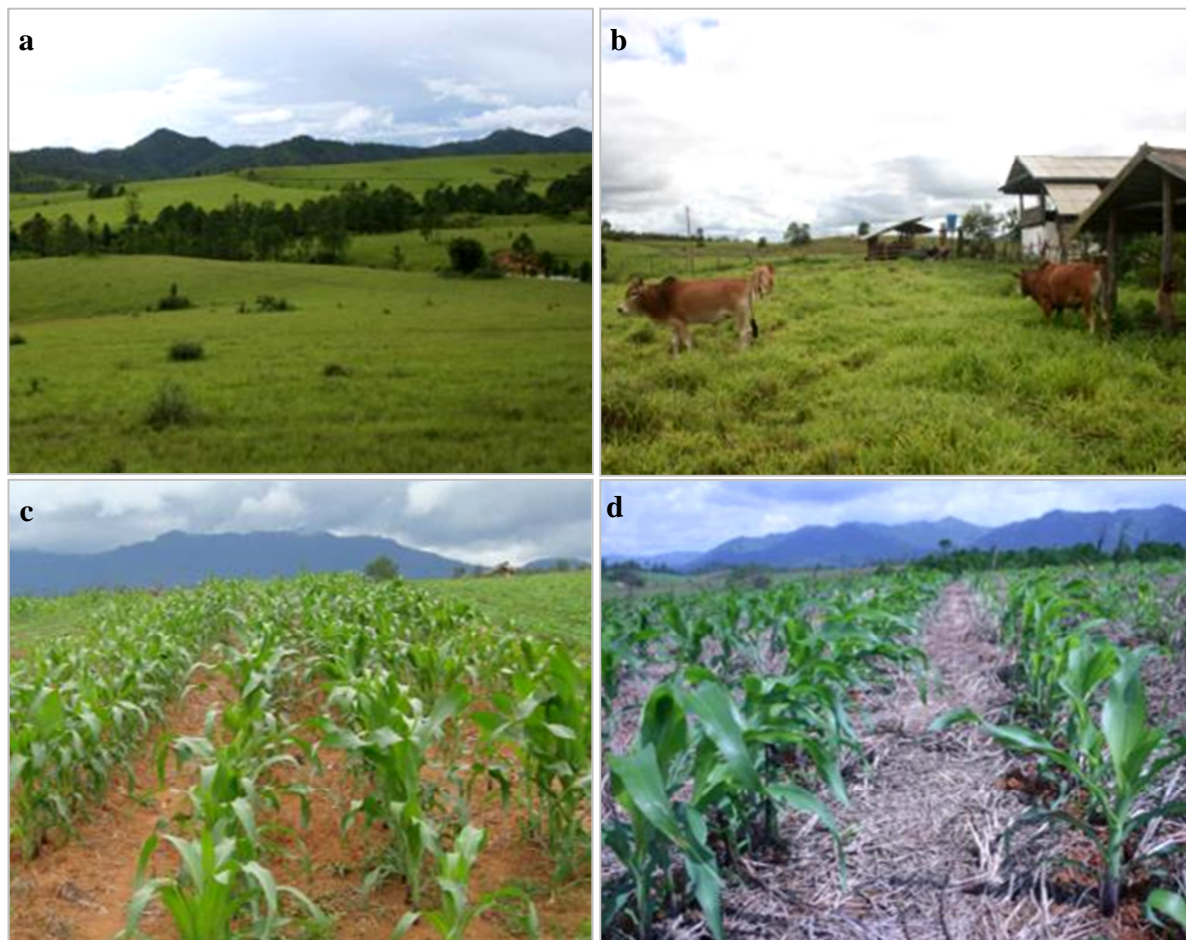
Experiments were conducted in Poa village (Lat. 19°33'N, Long. 102°59'E) at 1,130 m AMSL. The climate is tropical and mountainous with a 6-month (April-September) wet and hot season and a 6-month dry season including 3 months of cold. The mean annual precipitation is 1,400 mm. The soils at the site are red clayey Oxisols (USDA classification). We studied five land use management systems representing a decreasing gradient of cropping intensity and soil disturbance (Table III.2): one tillage-based rotational system (CT), based on soil ploughing and repeated human interventions (e.g., sowing, manual weeding, and fertilizer application); two no-till rotational systems (NT1 and NT3), with limited soil disturbance (no-tillage) but also including frequent agricultural operations (e.g., rolling, spraying, sowing, and fertilizer application); one intensively grazed no-till and mono-specie improved pasture (ImpP); and a natural unfertilized and barely grazed grassland (PAS).

Table III.2. Main land use management characteristics. Main crops: Rice cv. Sebotal, corn hybrid LVN10, soybean cv. Asca. Cover crops: Fm, finger millet (*Eleusine coracana* Gaern); Pp, pigeon pea (*cajanus cajan* cv Thai); stylo, *stylosanthes guianensis* cv. CIAT 184; oat, *Avena sativa* L.; buck, buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench); ruzi, ruzi grass (*Brachiaria ruziziensis* cv. ruzi).

* Annual fertilization of 60-80-60 kg.ha⁻¹ of N-P₂O₅-K₂O (32 kg N.ha⁻¹ for soybean). All agricultural treatments also received an initial application of 2 Mg.ha⁻¹ of locally-produced lime (27% of CaO).

Land use	Main characteristics
PAS	Native unfertilized pasture (> 30 years) dominated by <i>Themeda triandra</i> , barely grazed (animal stocking rate < 0.3 head.ha ⁻¹) during the rainy season, and periodically burned during the dry season
ImpP	Improved pasture of ruzi grass direct seeded (no-till) in 2007 after the chemical control of native grasses; grazed (mean animal stocking rate of 4 heads.ha ⁻¹) and fertilized* during the rainy season
CT	Conventional tillage: 3-year rotation of soybean (2008), rice (2009) and corn (2010) based on annual ploughing with discs, the burying of former crop residues and weeds, and mineral fertilization*
	No-till systems: similar to CT regarding crop rotation and fertilization level* but conducted under no-tillage, crop residue maintenance at soil surface, and the association of cover crops prior to and with main crops:
NT 1	Fm + Pp (2007), soybean + oat + buck (2008), rice + stylo (2009), corn + Pp (2010)
NT 3	Ruzi + Pp (2007), soybean + (oat + buck) + ruzi (2008), rice (+ stylo) + ruzi (2009), corn + ruzi (2010)

Figure III.5 Land use management sampled in Poa experimental site: a) natural unfertilized pasture (PAS), b) Improved pasture of *Brachiaria ruziziensis* (ImpP), c) maize crop under tillage (CT), and d) maize crop under no-till system (NT1 and NT3)



The annual crop treatments (CT, NT1, and NT3) were selected from the split-split plot experimental design described in Lienhard et al. (2013). The pasture treatments (ImpP and PAS) were taken from surrounding fields (Figure III.5).

2.2. Soil sampling and chemical analysis

The soil was sampled at 0-10cm depth, on the 29th of June 2010, forty days after maize sowing. A composite sample was made of a pool of five sub-samples taken in the diagonal section of the plot. For annual crop systems, soil was sampled on the maize row to avoid a possible “cover crop” effect under no-till systems. Soil chemical analyses were done by the INRA laboratory in Arras, France. Soil texture was measured by sieving methods (3 classes). Soil organic carbon (SOC) and total nitrogen (N) were quantified by dry combustion. Soil pH was measured in 1:5 soil/water slurry, and exchangeable bases (Ca, Mg, K, Na) were quantified using ammonium acetate reagent.

2.3. Pyrosequencing of 16S and 18S rRNA gene sequences

Microbial DNA was extracted from 2g (dry weight) of soil using a single procedure standardized by the GenoSol platform (INRA, Dijon, France, www.dijon.inra.fr/plateforme_genosol).

Microbial diversity was estimated by 454 pyrosequencing, a molecular technique allowing a rapid and massive production of targeted DNA sequences (Maron et al. 2010). A 16S rRNA gene fragment of the appropriate size (about 440 bp) and sequence variability for 454 pyrosequencing was amplified using the primers 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') and 803R (5'-CTACCNGGGTATCTAAT-3') according to a procedure described by Terrat et al (2011). Briefly, for each soil, 5ng of DNA were used for a 25µl PCR conducted under the following conditions: 94°C for 2 min, 35 cycles of 30 s at 94°C, 52°C for 30 s and 72°C for 1 min, followed by 7 min at 72°C. PCR products were purified using a MinElute gel extraction kit (Qiagen, Courtaboeuf, France) and quantified using the PicoGreen staining kit (Molecular Probes, Paris, France). Similarly, A 18S rRNA gene fragment of about 350 bp was amplified using the primers FR1 (5'-ANCCATTCAATCGGTANT-3') and FF390 (5'-CGATAACGAACGAGACCT-3') under the following PCR conditions: 94°C for 3 min, 35 cycles of 1 min at 94°C, 52°C for 1 min and 72°C for 1 min, followed by 5 min at 72°C. A second PCR of 9 cycles conducted under similar conditions was then realized with purified PCR products and ten base pair multiplex identifiers added to the

primers at 5' position to specifically identify each sample and avoid PCR biases. PCR products were finally purified and quantified as previously described. Pyrosequencing was then carried out on a GS Junior (Roche 454 Sequencing System).

2.4. Bioinformatic analysis of 16S and 18S rRNA gene sequences

Bioinformatic treatment was done using the GnSPipe of the GenoSol platform (INRA, Dijon, France) described by Terrat et al. (2012). Firstly, all reads were sorted according to the chosen identifiers' sequences. Then, in order to efficiently compare the datasets and avoid biased community comparisons, raw datasets which had a large number of reads were reduced by random selection close to the lowest datasets (8,000 and 2,500 reads for 16S and 18SrRNA gene sequences respectively). Raw reads were filtered and deleted: (a) if the exact primer was not found at the beginning of the sequence, (b) if the sequences contained any ambiguity (Ns), (c) if its length was below 350 and 250 bases for 16S and 18S reads respectively. A PERL program was then applied to obtain strict dereplication (i.e. clustering of strictly identical sequences). The dereplicated reads were then aligned using infernal alignments and clustered into molecular operational taxonomic units (MOTU) using a PERL program that clusters rare reads to abundant ones, and do not count differences in homopolymer lengths. Another homemade filtering step was then applied to eliminate potential sources of errors (e.g., PCR chimeras, sequencing errors, MOTU overestimation). All single-singletons (reads detected only once and not clustered) were then checked based on the quality of their taxonomic assignments to avoid artifacts. High-quality reads were then used for taxonomy-based analysis using: (a) the Naïve Bayesian rRNA classifier of the RDP project for bacterial sequences, (b) the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) performed on a cleaned version of the Silva database (version r111 using the EMBL taxonomy) for fungal sequences. Diversity indexes were finally determined using the detected taxonomic groups at the genus level. We used the maximum number of MOTU, the Shannon (H') and Evenness (J) indexes as indicators of soil microbial richness, diversity and structure respectively. The raw data sets are available on the EBI database system (and Short Read Archive) under project accession number ERP002181.

2.5. Statistics

Principal Component Analysis (PCA), were performed using the ADE-4 package (Thioulouse et al. 1997) under R software and provided an ordination of data in factorial maps based on the scores of the first two principal components.

3. Results and discussion

3.1. Effect of agricultural management on soil chemical characteristics

Despite the limited time of cultivation at evaluation (three years), we observed a significant early effect of agricultural systems on top soil chemical characteristics (Table III.3). We recorded a rapid decrease in soil organic carbon (SOC) and total nitrogen (N) under conventional tillage, with a mean loss of 25% of SOC and total N under conventional tillage as compared to no-tilled systems, which may be related to macro aggregate disruption, enhanced soil aeration and the mixing of residues into the soil (Six et al. 2006). We also observed an increase in soil pH and exchangeable base content under all cultivated systems as compared to the natural pasture (Table III.3), due to lime and thermophosphate supply (Table III.2). However, soil exchangeable base content was much higher under no-till cultivated systems (NT1, NT3 and ImpP) than under conventional tillage (+75% in average, Table III.3), suggesting important nutrient losses by lixiviation under tillage systems. Altogether, our results are consistent with other studies comparing till vs no-till system effect on soil chemical properties at soil surface (Kladivko 2001, Govaerts et al. 2007).

Table III.3 Top soil (0-10cm) chemical characteristics, microbial molecular abundance and diversity according to land use management. PAS, natural pasture; ImpP, improved pasture; CT, conventional tillage; NT1 and NT3, no-till systems. SOC, soil organic carbon; N tot, total nitrogen; C:N, carbon to nitrogen ratio; Σ base, sum of exchangeable bases (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+). MOTU, molecular operational taxonomic units corresponding to richness determined at the genus level; H', Shannon index; J, Evenness index.

Land use	Clay (%)	pH H ₂ O (1:5)	Soil Organic content (g kg ⁻¹)	N tot (g kg ⁻¹)	C:N	Σ base (cmol kg ⁻¹)	Microbial diversity					
							Bacterial			Fungal		
							MOTU	H'	J	MOTU	H'	J
PAS	57	4.9	38.6	2.6	14.8	2.1	361	3.9	0.67	392	4.8	0.80
ImpP	59	5.1	36.8	2.5	14.8	4.2	431	4.0	0.67	335	4.3	0.73
CT	55	5.0	28.9	1.9	15.0	2.5	528	4.4	0.70	236	3.9	0.72
NT1	60	5.3	39.3	2.7	14.4	4.6	507	4.3	0.70	467	4.9	0.80
NT3	63	5.2	45.1	3.1	14.5	4.3	477	4.4	0.72	341	4.5	0.78

3.2. Response of soil microbial diversity to land conversion to agriculture

Regardless of agricultural systems, the examination of the clustered DNA sequences revealed low microbial richness in Lao soils, with less than 550 molecular operational taxonomic units (MOTU), detected for both bacterial and fungal communities (Table III.3), whereas more than 1,000 MOTU were described in other soil ecosystems for both bacterial (Acosta-Martinez et al. 2008, Terrat et al. 2012, Tripathi et al 2012) and fungal (Buee et al. 2009) communities. This low richness could be related to the soil characteristics, since microbial diversity is strongly influenced by soil pH (Lauber et al. 2009), Al toxicity, and nutrients availability (Tripathi et al. 2012).

After three years of native grassland conversion to agriculture, we observed an early but significant effect of land use management on bacterial and fungal diversity (Table III.3). Bacterial diversity was favoured by increased soil disturbance and cropping intensity, with values of the Shannon index (H') and richness (MOTU) decreasing along the gradient conventional tillage > no-till systems > improved pasture > natural pasture (Table III.3). As compared to the natural pasture, conventional tillage increased H' value by +13% (from 3.9 to 4.4) and bacterial richness by +46% (from 361 to 528 MOTU, Table III.3). Interestingly, this gradient was the opposite of the results observed for bacterial density (Lienhard et al. 2013).

According to the “hump backed” model that links the biodiversity of a community to the intensity of its exposure to environmental stress (Giller et al. 1998, Bressan et al. 2008), our results suggest that the tillage events may at that stage represent a moderate perturbation for bacteria leading to a decrease in the competitive niche exclusion and selection mechanisms occurring between populations, and consequently to an increase in bacterial richness. In other respects, plant diversity (with no-till systems > improved pasture, Table III.3) and mineral fertilization (with no-till systems and improved pasture > natural pasture) may also have contributed to increased bacterial diversity under no-till agricultural systems as compared to the native grassland, due to their positive effect on soil pH and nutrient availability (Table III.2) which have been shown to favour bacterial diversity (Lauber et al. 2009, Tripathi et al. 2012).

Contrary to bacterial diversity, fungal diversity was negatively affected by tillage, with lower values of richness (MOTU) and Shannon index (H') observed under conventional tillage (236 MOTU and H' of 3.9) than under no-tilled systems (MOTU ranging from 335 to 467, and H' from 4.3 to 4.9, Table III.3), which might be related to the negative effect of tilling tools on fungal hyphal growth (Six et al. 2006). We found notably 2-fold higher fungal richness and 25% higher H' value under no-till system 1 than under conventional tillage (Table III.3). Plant diversity also

appeared important in maintaining soil fungal diversity, with 40% higher fungal richness and 14% higher H' value observed under no till system 1 as compared to the improved pasture (Table III.2), this finding being in agreement with Nishizawa et al. (2010) who observed similar correlations between plant and fungal diversity.

Finally, although the land use management did not modify two years after grassland conversion into agricultural land the fungal to bacterial density ratio (Lienhard et al. 2013), it deeply impacted the fungal to bacterial diversity ratio, with the highest bacterial diversity and the lowest fungal diversity observed under conventional tillage (Table III.3). Interestingly, this suggests that diversity measurements are more sensitive than density measurements to evidence early impacts of land use management on soil microbial properties.

We used the “hump backed” relationships between biodiversity and the level of environmental stress (Giller et al., 1998, Bressan et al., 2008) to classify the agricultural systems according to their impact on soil microbial diversity (Figure III.6). Conventional tillage represented a moderate perturbation for bacteria and a high perturbation for fungi whereas no till and improved pasture systems represented a lower perturbation for both bacterial and fungal populations. No-till cropping systems represented intermediate situations between tillage and monospecie improved pasture systems in terms of environmental perturbation. Altogether, our results suggest the promotion of no-till systems as a fair trade-off between the need for agriculture intensification and soil biological integrity preservation.

Figure III.6 Schematic representation based on the “hump backed” model of the level of a) bacterial and b) fungal diversity according to the level of environmental stress induced by the different agricultural systems. PAS, natural pasture; ImpP, improved pasture; CT, conventional tillage; NTs, no-till systems.

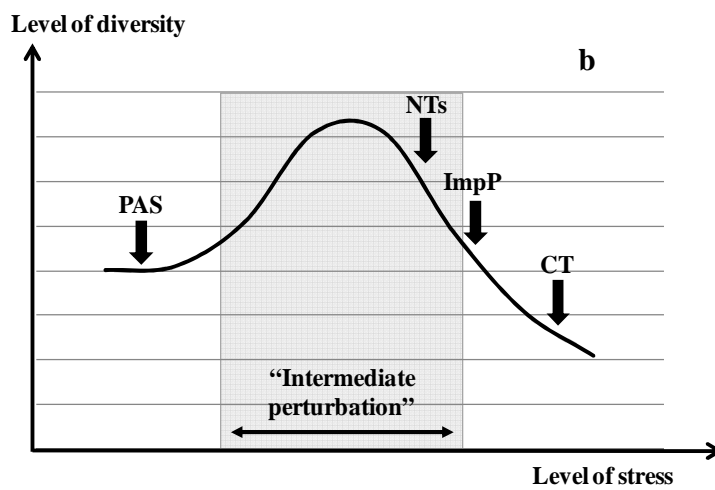
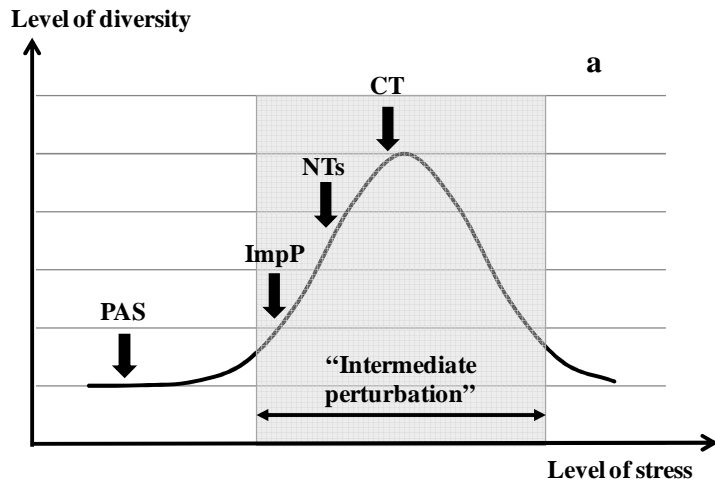
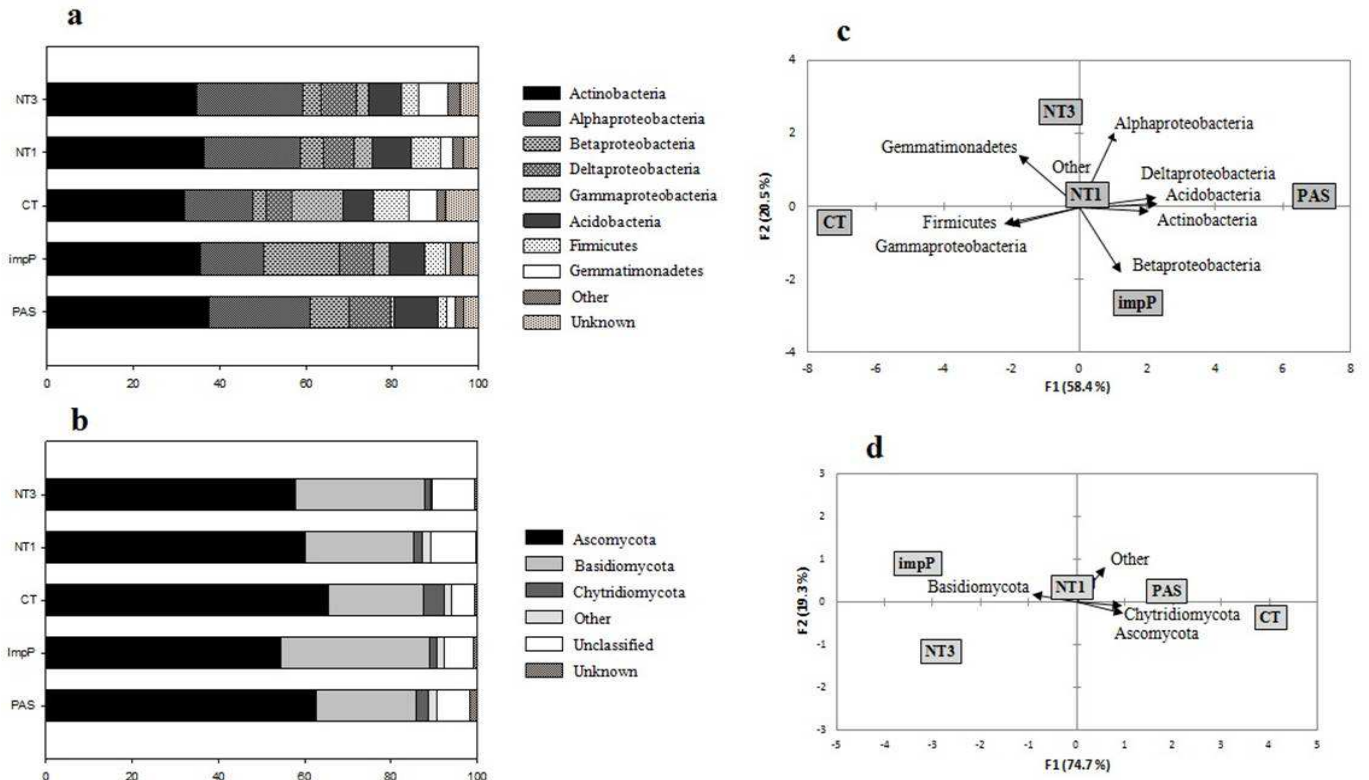


Figure III.7 Bar plot representation of: a) soil bacterial and b) soil fungal phyla relative abundance according to land use management; and factorial maps of the principal component analysis (PCA) performed on: c) soil bacterial and d) soil fungal phyla relative abundance. PAS, natural pasture; impP, improved pasture; CT, conventional tillage; NT1 and 3, no-till systems.



3.3. Effect of agricultural management on soil bacterial and fungal taxonomic composition

Although the number of bacterial and fungal phyla were not significantly different between the different agricultural management (data not shown), we observed an early and strong effect of on their relative abundance (Figure III.7ab). this observation was confirmed by principal component analysis (PCA) based on taxonomic composition, with a clear discrimination of land use on the factorial maps (Figure III.7cd). Interestingly, we observed similar gradients between bacterial diversity (Table III.3) and composition (Figure III.7c), with conventional tillage being strongly discriminated from pasture on the first PCA axis, and No Till and Improved Pasture representing intermediate situations. This highlights the importance of soil disturbance and cropping intensity as major drivers of soil bacterial diversity in our agricultural systems.

Regardless of land use management, the *Proteobacteria* was the dominant bacterial phyla and represented 35 to 45% of all bacterial DNA sequences (Figure III.7a). Compared to the natural pasture, we observed a decrease of this phyla (by -6%) under conventional tillage, which may be explained by a reduced soil organic carbon content (Table III.3) since the *Proteobacteria* have been described as fast growing copiotrophs stimulated in C-rich environments (Bernard et al. 2007, Cleveland et al. 2007, Fierer et al. 2007, Jenkins et al. 2010). Agricultural management also affected the class distribution within this phyla, with a higher relative abundance of *Gamma-proteobacteria* (+11%) and a lower relative abundance of *Alpha-* (-7%), *Beta-* (-6%), and *Delta-proteobacteria* (-4%) observed under conventional tillage as compared to the natural pasture (Figure III.7c). In addition, improved pasture was discriminated from the other no-till systems on the second PCA axis because of a higher relative abundance of *Beta-proteobacteria* (Figure III.7c), and notably of *Massilia* genus (25% of all sequences), which has been described as a root colonizing bacteria stimulated by roots exudates and readily degradable carbon-compounds (Ofek et al., 2012). This is consistent with Wenzl et al. (2001) who found ruzi grass roots to exudate a high amount of organic acids (e.g. malate, citrate, and oxalate) as a mechanism of Al resistance.

The *Actinobacteria* was the second most abundant phyla with 30 to 40% of all the bacterial sequences (Figure III.7a). *Actinobacteria* has been described as mainly K-strategists (Bernard et al. 2007, Pascault et al., in press), and well represented in non-disturbed grass systems (Acosta-Martinez et al. 2008, Yu et al. 2011). The high proportion of detected *Actinobacteria* in each system may consequently result from the pasture history of the site and the limited duration of cultivation (3 years) since conversion. However, as for the *Proteobacteria*, land use management shaped

Actinobacteria distribution, with a decrease in relative abundance observed under conventional tillage as compared to Pasture (by -6%, Figure III.7ac). This may be explained by the particular morphology of those organisms, which are forming structures harboring similarities with fungal hyphae (Stackebrandt et al. 1997) that make them more sensitive than other bacterial groups to physical soil disturbance.

Other bacterial phyla were also affected by land use management with a decrease in the relative abundance of *Acidobacteria* (by -3%) observed under conventional tillage as compared to pasture, and by contrast, an increase in the relative abundance of the *Firmicutes* (by +6%, Figure III.7a), that further distinguish conventional tillage and pasture on the first axis of the PCA (Fig 3c). Bacteria belonging to the *Acidobacteria* phyla has been described as mainly oligotrophs (K-strategists), which utilize complex carbon substrates that are more likely to be present in the native SOM (Bernard et al. 2007, Fierer et al. 2007). In addition, *Acidobacteria* abundance has been shown to increase with soil age (Nemergut et al. 2007), which may explain their higher abundance in the undisturbed pasture treatment. By contrast, the *Firmicutes* have been described as mainly copiotrophs (Bernard et al. 2007, Cleveland et al. 2007, Fierer et al. 2007, Jenkins et al. 2010), which are, however, able to survive in adverse environmental conditions, due to their ability to produce endospores (Mandic-Mulec and Prosser 2011). This may explain that their stimulation under conventional tillage represents the most disturbed and most carbon-depleted environment.

Regarding fungal taxonomic diversity, the dominant phyla were the *Ascomycota* (55-65% of all fungal sequences, Figure III.7b), and the *Basidiomycota* (20-35% of all fungal sequences). These two phyla mainly belong to the saprotrophic soil fungi (de Boer et al. 2005) and are classically dominant in soils (Buee et al. 2009, Nishizawa et al. 2010, Yu et al. 2011). However, land use management affected phyla relative abundance distribution, with a higher relative abundance of *Basidiomycota* observed under ruzi grass-dominated systems as compared to the conventional tillage (+12% and +8% for improved pasture and no-till system 3 respectively), and by contrast a lower relative abundance of *Ascomycota* (-11% and -7% respectively) and *Chytridiomycota* (-3% and -3.5% respectively) under improved pasture and no-till system 3 as compared to conventional tillage (Figure III.7d). Our results are consistent with de Boer et al. (2005) description of *Basidiomycotina* fungi's predominant role in lignin degradation, with a higher amount of stubble restitution under improved pasture and no-till system 3 than under conventional tillage (Lienhard et al. 2013). In addition, soil *Chytridiomycota* have been shown to be able to

recover from drying and high temperature events (Gleason et al. 2004), which may more likely occur under bare and tilled soils (Six et al. 2006).

Altogether, the analysis of soil microbial phyla distribution gives us an interesting overview of the ecological status at evaluation through the ecological attributes of the microbial groups that were stimulated. It is worth noting that all the sub-taxa of these broad phyla may clearly not conform to these general ecophysiological characteristics (oligotrophic vs copiotrophic attributes). However, our results suggest that general ecological attributes may be ascribed at the phyla level, in agreement with other authors (Cleveland et al 2007; Fierer et al. 2007; Jenkins et al. 2010).

3.4 Conclusion

In an acid tropical grassland environment, we observed an early and significant effect of agricultural management on soil microbial properties, with tillage decreasing fungal richness and diversity, but increasing bacterial richness and diversity. We found also that land use modified soil microbial taxonomic composition. Compared to the natural pasture, tillage decreased notably the relative abundance of *Actinobacteria*, *Acidobacteria* and *Delta-proteobacteria* phyla, and by contrast increased the relative abundance of *Firmicutes*, *Gamma-proteobacteria* and *Chytridiomycota* phyla. Consequently, our results highlight that no-till cropping systems represented intermediate situations between tillage and the natural pasture, and therefore suggest the promotion of no-till systems as a fair trade-off between the need for agriculture intensification and soil ecological integrity preservation.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Sector-Based Program in Agroecology (PROSA), the French Development Agency (AFD), the French Global Environment Facility (FFEM) and the French Ministry of Foreign Affairs for their financial support. This work, through the involvement of technical facilities of the GenoSol platform of the infrastructure ANAEE-Services, received a grant from the French state through the National Agency for Research under the program “Investments for the Future” (reference ANR-11-INBS-0001), as well as grant from the Regional Council of Burgundy.

3.3. Liens entre la diversité microbienne et la dynamique du carbone dans les sols

Cette dernière partie est également présentée sous la forme d'un article scientifique qui a été accepté pour publication dans la revue *Environmental Chemistry Letters* (Lienhard et al., 2013 ; DOI: 10.1007/s10311-013-0420-8).

Tillage system and cropping intensity shift the links between microbial diversity and Carbone turnover in Laos tropical grassland

Pascal Lienhard^{1,2,3}, Sébastien Terrat^{3,4}, Olivier Mathieu⁵, Jean Levêque⁵, Nicolas Chemidlin Prévost-Bouré³, Virginie Nowak^{3,4}, Tiffanie Régnier⁴, Céline Faivre⁴, Sengphanh Sayphoummie⁶, Khamkéo Panyasiri², Florent Tivet¹, Lionel Ranjard^{3,4} and Pierre-Alain Maron^{3,4*}

¹ CIRAD, UR SIA, F-34398 Montpellier cedex 5, France

² NAFRI, NCAC, PO Box 7170, Vientiane, Lao PDR

³ INRA-Université Bourgogne, AgroSup Dijon, UMR 1347 Agroécologie, BP 86510, F-21000 Dijon, France

⁴ INRA-Université Bourgogne, AgroSup Dijon, UMR1347 Agroécologie, Plateforme GenoSol, BP 86510, F-21000 Dijon, France

⁵ UMR Biogeoscience, plateforme ISOTOP, F-21000 Dijon, France

⁶ PROSA / MAF, PO Box 10118, Vientiane, Lao PDR

*Corresponding author Pierre-Alain Maron - E-mail: pamaron@dijon.inra.fr

Abstract. Agricultural practices are important drivers of soil microbial diversity. However, the functional significance of microbial diversity modifications on soil functioning in agrosystems is still poorly understood. Here, we investigate the effect of agricultural management on the links existing between soil microbial diversity and carbon turnover in a tropical grassland ecosystem of north-eastern Laos. Three years after native grassland conversion into agricultural land, we compared soils coming from five land use management systems: one till *vs.* two no-till rotational cropping systems, one no-till improved pasture, and the natural grassland. Soils were incubated in microcosms during 64 days at optimum temperature and humidity. Bacterial and fungal diversity were evaluated by metagenomic 454-pyrosequencing of 16S and 18SrRNA genes respectively. Changes in soil respiration patterns were evaluated through the monitoring of ^{12}C - and ^{13}C -CO₂ release after soil amendment with ^{13}C -labelled wheat residues. Seven days after soil amendment, residue mineralization was positively associated with bacterial richness and diversity in the tilled treatment, while native soil organic carbon mineralization and priming effect (i.e., the increase in native soil organic carbon decomposition following energy-rich input to soil) were positively associated with fungal richness and diversity in improved pasture and natural grassland. No-till cropping systems represented intermediate situations between tillage and pasture systems. Altogether, our results highlight the potential of driving soil microbial diversity through agricultural practices to improve soil biological functioning, and suggest the promotion of no-till systems as a fair compromise between the need for agriculture intensification and soil ecological processes preservation.

Keywords microbial diversity; carbon cycle; priming effect; conservation agriculture; tillage; acid savannah.

1. Introduction

The soil is the support of agriculture and a main reservoir of microbial diversity (Torsvik 2002). Soil microbial communities are responsible for a wide range of soil functions and ecological services that are essential for soil fertility, quality, and productivity (Kladivko 2001, Torsvik 2002). Agricultural practices have been demonstrated to have a strong impact on soil microbial properties (Kladivko 2001, Buneman et al. 2006, Govaerts et al. 2007, Nicolardot et al. 2007). In conventional agriculture, tillage has generally the greatest impact on soil microorganisms since physical disturbance deeply affects the physico-chemical environment in which microorganisms live (Kladivko 2001, Six et al. 2006, Tivet et al. 2013). Based on the principle of minimal soil disturbance, no-till farming systems have gained increased public attention over the past decades as an economically and ecologically-sound alternative to tillage-based agriculture (Derpsh et al. 2010). Combined with soil cover (mulch) and diversified crop rotation, no-till systems are advocated over tillage to enhance soil biological functioning and long term crop productivity (Kladivko 2001, Govaerts et al. 2007).

However, there is still little knowledge of how tillage systems and plant diversity may shift the links between microbial diversity and soil biological functioning. This is particularly true regarding soil organic matter (SOM) mineralization and turnover, which is a major component of soil fertility and quality due in particular to the contribution of SOM to such important soil functions as soil structure maintenance, or water and nutrient cycling (Craswell and Lefroy 2001). SOM balance in agricultural soils rely on the activity of soil decomposers (mainly microorganisms), and notably on the interactions between two functional groups: the copiotrophs (r-strategists) and the oligotrophs (K-strategists), which may be involved in the decomposition of the fresh organic matter (FOM) and native SOM, respectively (Fontaine et al. 2003, Bernard et al. 2007). Soils can be a source or a sink of carbon, and great expectations are put in agricultural soils to store more carbon in order to mitigate climate change (Six et al. 2006). The addition of FOM to the soil may however increase the SOM decomposition rate (Kuzyakov 2010). This process, known as priming effect (PE), is suspected to rely on microbial (copiotrophs vs. oligotrophs) competition (Fontaine et al. 2003), and may lead to a three-fold increase in native SOM mineralization following FOM addition to soil (Pascault et al. in press).

Although the recent development of culture-independent molecular tools and of *in silico* meta-analysis has allowed an increasing characterization of the incredible diversity of soil

microorganisms (Maron et al. 2010), the interpretation of this information in an ecological and functional manner remains highly challenging. Important questions, including which groups of fungi and bacteria are most abundant in soil, why and how these groups interact and participate in carbon transformation in soil still remain unanswered (Fierer et al. 2007). In this context, increasing our knowledge on how modifications of soil biodiversity induced by land use affect C-cycling dynamics should represent a decisive step toward a better management of carbon and related ecosystem services in agricultural soils. This is particularly true in tropical acid soils areas, where the increase in SOM is a key challenge to increase and sustain food production (Craswell and Lefroy 2001).

In a previous study, we showed that tillage systems and crop sequences rapidly affected soil microbial abundance and genetic structure in a tropical grassland ecosystem of north-eastern Laos (Lienhard et al. 2013). In this study, our objective was to investigate how changes in microbial diversity may affect soil carbon mineralization patterns. For this, three years after the conversion of native grassland into agricultural land, we compared soils coming from five contrasted land use management systems: one tillage-based and two no-till rotational cropping systems, one no-till improved pasture, and the natural surrounding pasture. Soil bacterial and fungal diversity were evaluated by high throughput pyrosequencing of ribosomal genes. Changes in soil respiration patterns were evaluated through the monitoring of ^{12}C - and ^{13}C - CO_2 release after soil amendment with ^{13}C -labelled residues and incubation in soil microcosms at optimal temperature and humidity. Soil microbial diversity properties were then confronted with early C turnover changes to better evaluate the environmental footprint of agricultural management on soil quality and ecosystem services.

2. Material and methods

2.1. Experimental site and land use management

Experiments were conducted in Poa village (Lat. 19°33'N, Long. 102°59'E) at 1,130 m AMSL. The climate is tropical and mountainous with a 6-month (April-September) wet and hot season and a 6-month dry season including 3 months of cold. The mean annual precipitation is 1,400 mm. The soils at the site are red clayey Oxisols (USDA classification). We studied five land use management systems representing a decreasing gradient of cropping intensity and soil

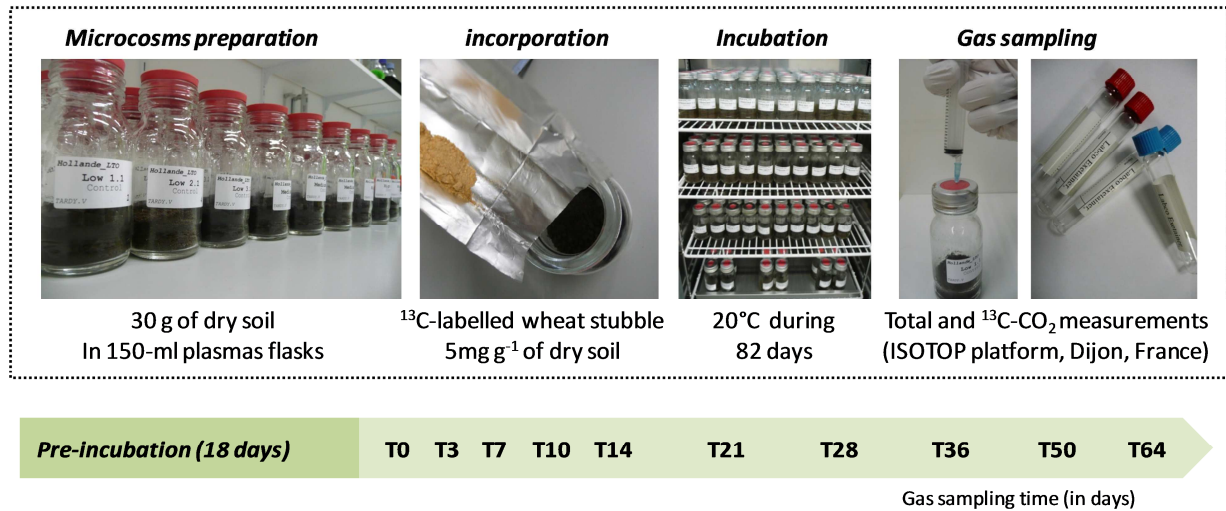
disturbance: one tillage-based rotational system (CT), based on soil ploughing and repeated human interventions (e.g., sowing, manual weeding, and fertilizer application); two no-till rotational systems (NT1 and NT3), with limited soil disturbance (no-tillage) but also including frequent agricultural operations (e.g., rolling, spraying, sowing, and fertilizer application); one intensively grazed no-till and mono-specie improved pasture (ImpP); and a natural unfertilized and barely grazed grassland (PAS). The annual crop treatments (CT, NT1, and NT3) were selected from the split-split plot experimental design described in Lienhard et al. (2013). The pasture treatments (ImpP and PAS) were taken from surrounding fields.

The soil was sampled at 0-10cm depth, on the 29th of June 2010, forty days after maize sowing. A composite sample was made of a pool of five sub-samples taken in the diagonal section of the plot. For annual crop systems, soil was sampled on the maize row to avoid a possible “cover crop” effect under no-till systems.

2.2. Soil microcosms set up, gas and soil sampling strategy

A total of 30 microcosms (5 land uses x 2 treatments per land use - amended/not amended - x 3 replicates per treatment) were set up by placing 30g of dry soil into 150-ml hermetically sealed plasmas flasks. Soil microcosms were supplemented with sterile water to reach 60% of their water holding capacity. After a pre-incubation of 18 days at 20°C, microcosms were either amended with ¹³C-labelled wheat stubble (*Triticum aestivum* cv Caphorn, 10% atom ¹³C, 5mg g⁻¹ of dry weight soil) previously finely ground in a bead beater to obtain a powder, or not amended (control). Soil microcosms were incubated at 20°C in the dark for 64 days. CO₂ measurements (total and ¹³C-CO₂, see 2.3) were performed at 3, 7, 10, 14, 21, 28, 36, 50, and 64 days of incubation on triplicate microcosms (Figure III.8). After each gas sampling, microcosms were aerated by flushing with air. Soil water content was then verified to ensure optimal biological conditions. At T0 (just after incorporation of ¹³C-labelled wheat material), 2g of dry soil were taken from each microcosm and stored at -80°C for molecular biological analyses.

Figure III.8 Soil microcosms set up and gas sampling strategy



2.3 Total and ¹³C-CO₂ measurements

At each sampling date, the gaseous phases were sampled in 3 ml Terumo evacuated blood collection tubes for measurement of the CO₂ concentration and in 37 ml airtight flasks for determination of carbon isotopic abundances. Since the microcosms were hermetically sealed and aerated by flushing with air at each sampling date, the concentrations measured corresponded to the CO₂ accumulated in the microcosm head-space between the two sampling dates. CO₂ concentration was determined on a MT1 Analytical Instrument micro GC equipped with a pora-PLOT Q capillary column and a Solid State Detector. Carbon isotopic enrichment was determined by gas chromatography isotope ratio mass spectrometry (GC-IRMS) using a Trace Gas interface coupled in continuous flow with a mass spectrometer VG Isochrom (Micromass, Manchester, England). For isotopic CO₂, a pure bottle (CO₂ > 99.9%, N48, Air Liquide, France), which was previously calibrated against a certified isotopic standard ($\delta^{13}\text{C} = -25.5 \pm 0.2\text{‰}$ vs. PDB, ISO-TOP, Air Liquide), was selected as an internal standard. Gas samples were manually injected into the Trace Gas with an air gas syringe. ¹³C labelling of the plant residues allowed separation of soil C (R_s) and plant residue (R_r) respiration (mg C-CO₂ kg⁻¹ soil) using the following mass balance equations:

$$R_s + R_r = R_t \text{ and } R_s \times A_s^{13} + R_r \times A_r^{13} = R_t \times A_t^{13}$$

where A_s^{13} is the ¹³C abundance regardless of soil carbon, A_r^{13} the ¹³C abundance of plant residue, R_t the total CO₂ emitted by soil with plant residue and A_t^{13} its ¹³C abundance.

The priming effect (PE) induced by the addition of plant residue was calculated as:

$$PE = (R_s \text{ soil with plant residue}) - (R_s \text{ control soil})$$

where R_s control soil is the CO_2 emitted by the soil in non-amended microcosms. All gases were expressed per gram of initial SOC.

2.4. Soil DNA Extraction

Microbial DNA was extracted from 2g (dry weight) of soil using a single procedure standardized by the GenoSol platform (INRA, Dijon, France, www.dijon.inra.fr/plateforme_genosol). Concentration of crude extract was determined by electrophoresis in a 1% agarose gel using a calf thymus DNA standard curve, with three replicates per soil sample. After quantification, the replicates were pooled and purified using a MinElute gel extraction kit (Qiagen, Courtaboeuf, France).

2.5. Pyrosequencing and bioinformatic analysis of 16S and 18S rRNA gene sequences

Microbial diversity was estimated by 454 pyrosequencing, a molecular technique allowing a rapid and massive production of targeted DNA sequences (Maron et al. 2010). A 16S rRNA gene fragment of the appropriate size (about 440 bp) and sequence variability for 454 pyrosequencing was amplified using the primers 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') and 803R (5'-CTACCNGGGTATCTAAT-3') according to a procedure described by Terrat et al (2012). Briefly, for each soil, 5ng of DNA were used for a 25 μ l PCR conducted under the following conditions: 94°C for 2 min, 35 cycles of 30 s at 94°C, 52°C for 30 s and 72°C for 1 min, followed by 7 min at 72°C. PCR products were purified using a MinElute gel extraction kit (Qiagen, Courtaboeuf, France) and quantified using the PicoGreen staining kit (Molecular Probes, Paris, France). Similarly, A 18S rRNA gene fragment of about 350 bp was amplified using the primers FR1 (5'-ANCCATTCAATCGGTANT-3') and FF390 (5'-CGATAACGAACGAGACCT-3') under the following PCR conditions: 94°C for 3 min, 35 cycles of 1 min at 94°C, 52°C for 1 min and 72°C for 1 min, followed by 5 min at 72°C. A second PCR of 9 cycles conducted under similar conditions was then realized with purified PCR products and ten base pair multiplex identifiers added to the primers at 5' position to specifically identify each sample and avoid PCR biases. PCR products were finally purified and quantified as previously described. Pyrosequencing was then carried out on a GS Junior (Roche 454 Sequencing System).

Bioinformatic analysis was done using the GnS-PIPE developed in the GenoSol platform (INRA, Dijon, France) and initially described by Terrat et al. (2012). The used procedure is a

modified version of the method described by Zancarini et al. (2012). Several step parameters have been modified: raw datasets were homogenized at 8,000 and 2,500 reads for 16S and 18S reads respectively, and raw reads were filtered with the length filter defined at 350 and 250 bases for 16S and 18S reads respectively. All other steps have been realized as described previously (specifically, high-quality fungal reads have been then taxonomically assigned against the Silva database (version r111) with a BLAST approach (threshold: 80% of similarity). Diversity indexes were finally determined based on the detected taxonomic groups at the genus level. We used the maximum number of MOTU, the Shannon (H') and Evenness (J) indexes as indicators of soil microbial richness, diversity and structure respectively. The raw data sets are available on the EBI database system under project accession number ERP002181.

2.6. Statistics

Principal Component Analysis (PCA), and coinertia analysis were performed using the ADE-4 package (Thioulouse et al. 1997) under R software and provided an ordination of data in factorial maps based on the scores of the first two principal components. Monte Carlo tests were then performed with 1,000 permutations to confirm the significance of the discriminated clusters.

3. Results and discussion

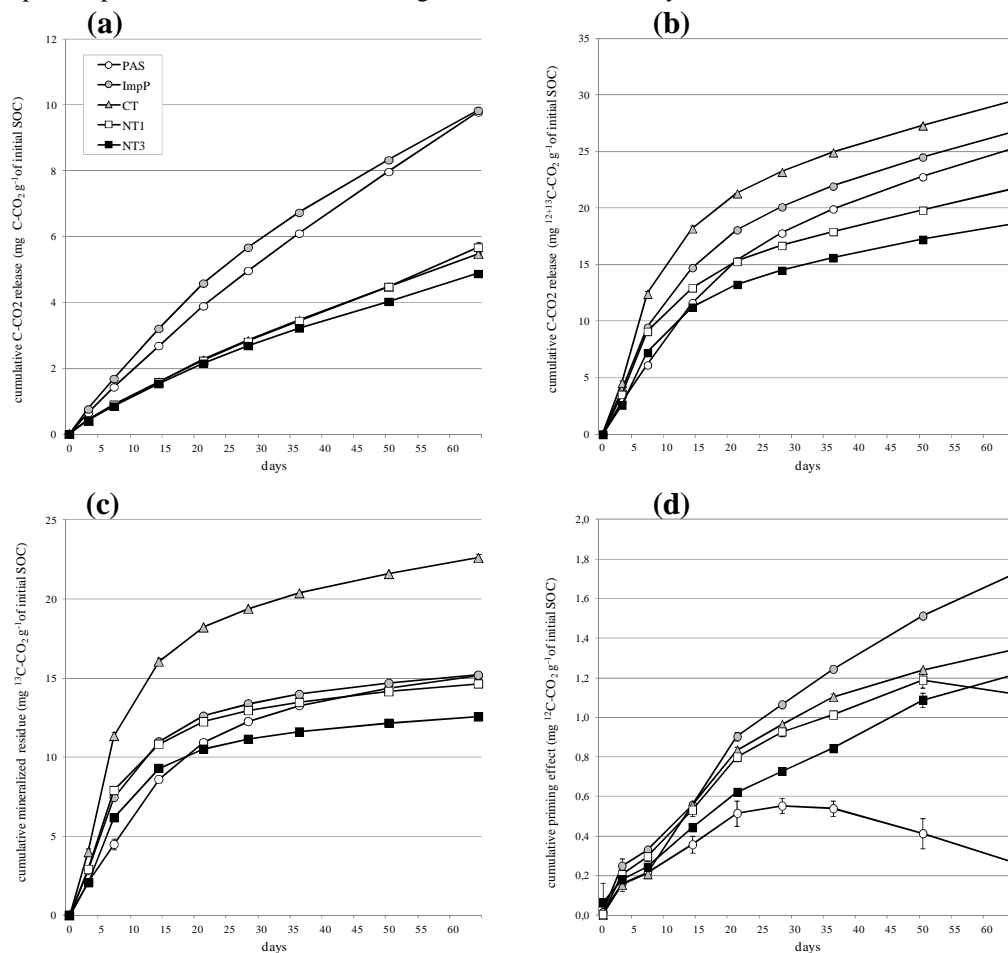
3.1. Effect of agricultural management on SOM-and FOM mineralization rates

Despite the limited time of cultivation at evaluation (three years), conventional tillage (CT) significantly decreased soil organic carbon (SOC) and total nitrogen (N) under, as compared to no-tilled systems (Lienhard et al. 2013), which may be related to macro aggregate disruption, enhanced soil aeration and the mixing of residues into the soil (Six et al. 2006). To compare respiration results between the three land uses without emphasizing the influence of soil organic matter content that is already widely recognized in the literature (Bernard et al. 2007, Govaerts et al. 2007), all gas were expressed per gram of initial SOC.

Soil basal respiration (*i.e.* the C-CO₂ release in control microcosms expressed in mg C-CO₂ g⁻¹ of initial SOC) was twice as high under pastures (PAS and ImpP) than under annual crop systems (CT, NT1 and NT3) (Figure III.9a). The differences in soil basal relative respiration rates appeared strongly related to the differences in microbial relative abundance (*i.e.* microbial DNA yield g⁻¹ of

initial SOC), with twice as high molecular biomass recorded at T0 under pastures than under annual crop systems (data not shown). However, microbial biomass may not be the only microbial parameter determining soil basal respiration rates since PAS and ImpP harboured similar respiration rates (Figure III.9a) despite significant lower initial microbial biomass under ImpP (data not shown). Similarly CT, NT1 and NT3 harboured comparable respiration rates despite significant lower initial microbial biomass under CT. This highlights changes in microbial activity, which may be partly explained by the changes in microbial diversity previously described.

Figure III.9 Cumulative C-CO₂ release per gram of initial SOC during the 64 days of incubation according to land use management in: a) non-amended microcosms (control), and b) microcosms amended with wheat residues. Cumulative c) wheat residue mineralization, and d) priming effect induced by wheat residue addition. PAS, natural pasture; ImpP, improved pasture; CT, conventional tillage; NT 1 and 3, no-till systems. Bars indicate standard deviation values



In the microcosms amended with wheat residues, total C-CO₂ release was rapidly increased, with an exponential phase during the first fifteen days followed by a decrease in mineralization rate (Figure III.9b) as described previously (Fontaine et al. 2003, Bernard et al. 2007, Nicolardot et al. 2007, Pascault et al. in press). This dynamic is usually explained by the decomposition of easily

degradable compounds during the first steps of the decomposition process, followed by the establishment of limiting conditions due to nutrient depletion and a higher recalcitrance of the remaining residues (Bernard et al. 2007, Nicolardot et al. 2007). The increase of soil respiration in amended microcosms was mainly due to the mineralization of wheat residue (Figure III.9c), which contributed from 57% (improved pasture) to 77% (conventional tillage) to the total C-CO₂ accumulated at T64. Residue relative contribution to total respiration was higher than results obtained in temperate soils after a similar period of time (Pascault et al. in press), and may be characteristic of acid, nutrient and energy poor soils. Interestingly, wheat residue mineralization per unit of initial soil organic carbon content was 1.5 to twice as high under conventional tillage than under the other land use management system, this differentiation occurring mainly during the first fifteen days (Figure III.9c).

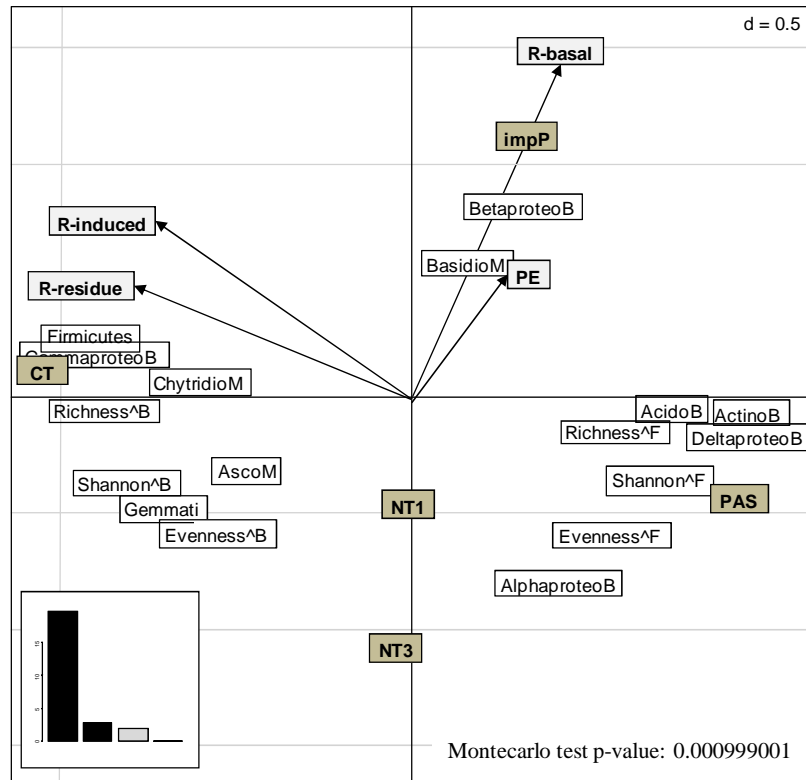
However, the increase of soil respiration in amended microcosms was also due to a significant increase of unlabeled ¹²C-CO₂ release compared to the control. This pointed to a priming effect (PE) of native SOM, the intensity of which being significantly ($p < 0.01$) higher under the cultivated soils (17 to 25% increase in SOM decomposition at T64) than under the native pasture (< 3% increase) (Figure III.9d). Interestingly, we observed negative PE occurring after T28 for the natural pasture (Figure III.9d) suggesting that SOM mineralization was not limited by energy in this land use (Guenet et al. 2010). In addition, the priming effect intensity in cultivated soils increased with crop specialization, with higher PE observed at T64 under the improved pasture (one specie) than under the rotational and diversified cropping systems (conventional and no-till systems, Figure III.9d). Tillage intensity also affected the priming effect intensity, with higher PE observed under conventional systems than under the no-till systems (Figure III.9d). The different patterns and intensity of priming effect observed between the agricultural treatments highlight that crop sequence and tillage systems may represent suitable ways to control the PE process, which participates to SOC balance in cultivated soils.

3.2. Ecological link between land use management, carbon turnover and microbial diversity

In order to evaluate to what extent the modifications of microbial diversity induced by the land use management may explain the differences of observed soil respiration, we performed a coinertia analysis between the C-related respiration activities that occurred during the early stage (first week) after soil amendment with or without residues, and the initial microbial taxonomic composition and diversity. This analysis evidenced significant relationships (Monte Carlo test, 1,000 permutations, p value <0.001), between land use management, soil carbon turnover, and microbial diversity (Figure III.10).

The conventional tillage system (CT) was clearly discriminated from the pastures (PAS and ImpP) on the first axis of the factorial map, while no-till cropping systems represented intermediate situations. From this analysis, two soil functioning regimes clearly emerged depending on the ecological characteristics of soil microbial communities. On the one hand, in the most perturbed system represented by the conventional tillage system, residue and induced respirations were positively associated with bacterial richness and diversity, which is consistent with De Boer et al. (2005) suggesting bacterial communities to be mainly responsible for the degradation of readily degradable C-compounds in soils. In addition, the higher relative abundance of *Gamma-proteobacteria* and *Firmicutes* phyla associated with conventional tillage (Figure III.10) suggests that these bacterial phyla, which has been described with copiotrophic and opportunistic attributes (Bernard et al. 2007, Cleveland et al. 2007, Fierer et al. 2007, Jenkins et al. 2010), but also with particular adaptation strategies such as spore formation, may have been selected by more stressful environmental conditions under tillage, and may have contributed the most to the residue mineralization during the early stage of fresh organic matter (FOM) degradation.

Figure III.10 Factorial map of the coinertia analysis performed between soil respiration activities until T7 and microbial composition and diversity at T0. Respiration data: cumulative C-CO₂ release per gram of initial soil organic carbon in: non-amended microcosms (R-basal), microcosms amended with wheat residues (R-induced), wheat residue mineralization (R-residue); PE, priming effect (PE). Microbial composition and diversity: B, bacteria; F, fungi; M, mycota. Land use management: PAS, natural pasture; ImpP, improved pasture; CT, conventional tillage; NT 1 and 3, no-till systems



On the other hand, in the less perturbed system represented by the pastures (PAS and ImpP), the basal respiration and the priming effect were positively associated with fungal richness and diversity, which is consistent with De Boer et al. (2005) suggesting soil fungal communities to be actively involved in the degradation of complex and stabilized C-substrates. These results are also consistent with Fontaine et al. (2003) describing fungal populations as major actors of the priming effect in agrosystems. In addition, the higher relative abundance of *Delta-proteobacteria*, *Actinobacteria*, and *Acidobacteria* phyla associated with the natural pasture (Figure III.10) suggests that these bacterial phyla may also have contributed to the mineralization of the native SOM and to the priming effect. This conclusion is in agreement with the conceptual framework for priming effect proposed by Kuzyakov (2010) who suggests trophic interactions between bacteria and fungi. Our results are also consistent with studies giving oligotrophic attributes to *Acidobacteria*

(Cleveland et al. 2007, Fierer et al. 2007,) and *Actinobacteria* (Bernard et al. 2007, Pascault et al. in press) phyla, while no specific trophic attributes could be found for the *Delta-proteobacteria*.

Our results show that soil C-substrates mineralization is significantly linked to microbial diversity. This highlights the strong potential of driving soil microbial diversity through agricultural practices to favour soil biological functioning and agriculture sustainability. In addition, the co-inertia factorial map evidenced that no-till systems represented intermediate situations between tillage and pastures systems regarding microbial taxonomic composition, residue and soil carbon mineralization rates. This evidenced that no-till systems induced a lower environmental impact on soil properties and carbon turnover than tillage systems. Therefore, no till cropping systems can be considered, in the Lao tropical grassland environment, as a fair trade off between the need for agriculture intensification and soil ecological processes preservation.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Sector-Based Program in Agroecology (PROSA), the French Development Agency (AFD), the French Global Environment Facility (FFEM) and the French Ministry of Foreign Affairs for their financial support. This work, through the involvement of technical facilities of the GenoSol platform of the infrastructure ANAEE-Services, received a grant from the French state through the National Agency for Research under the program “Investments for the Future” (reference ANR-11-INBS-0001), as well as grant from the Regional Council of Burgundy.

Chapitre 4

**Evaluation environnementale
de systèmes SCV *vs.* labour :
la spectroscopie comme outil
synthétique de mesure de la
qualité des sols**

Dans le chapitre 3, l'utilisation d'outils chimiques, mécaniques et moléculaires nous a permis d'évaluer l'impact à court terme de systèmes SCV *vs.* labour sur les caractéristiques physiques, chimiques et microbiologiques des sols.

L'utilisation en routine de ces outils pour évaluer et piloter les systèmes agricoles est limitée par le temps et le coût de ces analyses en laboratoire. Il y a donc un besoin de développer des outils synthétiques, fiables, reproductibles, et peu coûteux en temps et en consommables, pour évaluer l'impact de pratiques agricoles sur la qualité des sols.

Durant les dernières décennies, la spectroscopie de réflectance dans le proche infrarouge (ou NIRS, *Near Infrared Reflectance Spectroscopy*) a été de plus en plus utilisée dans les sciences du sol (Chang et al., 2001; Stenberg et al. 2010). Ainsi, la NIRS est plus en plus utilisée comme méthode alternative pour évaluer les caractéristiques physico-chimiques et les activités biologiques des sols (Chang et al. 2001; Reeves, 2010; Stenberg et al. 2010, Genot et al. 2011). A ce jour, la NIRS reste cependant peu exploitée comme indicateur synthétique de la qualité des sols, et *in fine*, comme indicateur synthétique de durabilité des systèmes agricoles.

Dans ce chapitre, nous proposons une évaluation prospective de la NIRS comme outil permettant d'évaluer l'effet de systèmes SCV *vs.* labour sur la qualité des sols.

Ce chapitre est présenté sous la forme d'un article scientifique en cours de préparation devant être soumis au journal *Soil Biology and Biochemistry*.

**Evaluating conservation agriculture systems effect on soil quality in Laos
tropical grassland using NIRS**

Pascal Lienhard^{1,2*}, Abou Lam³, Somchay Chantavong², Bounma Leudphanane⁴, André
Chabanne¹, Bruno Buatois⁵ and Richard Joffre⁵

¹ CIRAD, UPR SIA, F-34398 Montpellier cedex 5, France

² NAFRI, NCAC, PO Box 7170, Vientiane, Lao PDR

³ Henri Poincaré University, Nancy, France

⁴ MAF, PROSA, PO Box 10118, Vientiane, Lao PDR

⁵ CNRS, CEFE, F34293, Montpellier cedex 5, France

*Corresponding author. Richard Joffre

Mailing address: CNRS – CEFE, UMR 5175,
1919 Route de Mende, 34293 Montpellier Cedex 5, France.

Phone : (33) 467 61 32 74, Fax (33) 467 61 33 36,

Email: richard.joffre@cefe.cnrs.fr

Abstract We investigated the possibility of using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to evaluate the effect of conservation *vs.* tillage-based agricultural systems on soil quality in a tropical savannah grassland ecosystem of north-eastern Laos. For this, we conducted a multi-step analysis on 590 soils selected from four land use managements: two crop-based conservation agriculture (CA) or conventional tillage (CT) agricultural systems, one no-till improved pasture (IP), and the natural surrounding pasture (PAS). First, we evaluated NIRS ability to discriminate land use management at various scales. Then, we tested NIRS ability to predict diverse soil physical, chemical, and microbial properties on a sub-sample of 125 soils. Finally, we evaluated by using NIRS the effect of agricultural systems on soil carbon and nitrogen content according to soil layer (top soil *vs.* cultivated layer) and experimental conditions (controlled *vs.* farmers plot). Our results show that NIRS clearly discriminated the different sites according to their physical (soil texture, drainage capacity) and organic properties. At plot scale, NIRS ranked the different land use management according to their organic (SOC and total N), chemical (Al saturation, available P, CEC, exchangeable bases) and physical (aggregate stability) properties. The best soil quality was found under agricultural systems combining conservation agriculture principles (no-till, mulch, and diversified rotations) and a moderate use of fertilizers. In addition, NIRS predictions were highly satisfactory for clay, sand, SOC and total N. Altogether, our study 1) highlights the substantial role that NIRS could play in reducing analysis cost and time notably regarding carbon inventory and sequestration, and 2) shows that CA could represent a relevant alternative to current tillage-based agricultural systems for expanding agricultural production in a marginal environment like the tropical acid savannah grasslands.

Key words: no-till, near-infrared reflectance spectroscopy, soil properties, environmental evaluation, acid savannah

1. Introduction

There is a need to increase and sustain agricultural production in most of the world to achieve food security objectives and respond to a rapidly growing demand for non-food agricultural products (FAO, 2006). While intensive agriculture has brought substantial economic and social development, it has also contributed to environmental degradation via increased soil erosion, greenhouse gas emissions, biodiversity loss, and the reduced delivery of many ecosystem services including soil and water conservation (Millennium Ecosystem Assessment, 2005). The reorientation of agricultural systems towards production modes that are still productive but more sustainable is therefore both necessary and highly challenging (De Schutter, 2011).

Among the possible alternatives, conservation agriculture (CA), which is based on the three principles of minimal soil disturbance (no-till), permanent soil cover (mulch) and diversified crop rotations, has gained increased public attention over the past decades as an economically and ecologically-sound alternative to tillage-based intensification (Hobbs 2007). CA systems have been widely adopted in large-scale mechanized agriculture to prevent soil erosion and decrease production costs (Derpsh et al., 2010). In addition, CA is being advocated over tillage for enhancing soil health and long term crop productivity (Govaerts et al., 2007). However, CA adoption in small-scale agriculture is still low (Derpsh et al., 2010) with therefore limited environmental studies conducted in such socio-economical context.

In order to evaluate the effect of agricultural systems on soil quality, it is necessary to jointly monitor their effect on the physical, chemical and biological properties of the soil, using sensitive and reliable technics (Velasquez et al., 2005). The routine analysis of soil properties changes is strongly limited by the time and the cost of conventional analytical methods in the laboratory. During the past decade, near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) has been increasingly used in the field of soil science as a reliable cost-and labor-saving alternative method to evaluate the soil characteristics related to organic matter, including, among others, soil organic carbon (SOC), nitrogen, phosphorus, calcium carbonate, moisture content, bulk density, and biological activities (Chang et al. 2001; Sheperd and Walsh, 2002; Cozzolino and Moron 2003, Velasquez et al. 2005; Cecillon et al., 2008; Moreira et al., 2009; Reeves, 2010; Stenberg et al. 2010, Genot et al. 2011). However, the quality of NIRS predictions may vary according to soil characteristics (e.g., particle size, color, and moisture content) and the reference methods used for calibration (Reeves, 2010). Up to now, NIRS potential to evaluate the effect of agricultural

systems on soil quality has been little exploited, notably in the savannah regions, whereas these areas are facing an increasing pressure for agricultural expansion, and are particularly susceptible to rapid degradation (IAEA 2000).

The purpose of this study was to test the ability of using NIRS for the environmental evaluation of conservation vs. tillage-based agricultural systems in a tropical savannah grassland ecosystem of north-eastern Laos. The traditional farming systems in this area are based on lowland paddy rice cultivation and extensive livestock production in the surrounding grasslands (Hacker *et al.* 1998). With limited opportunities for agricultural expansion in the lowlands, the development of a rainfed agriculture in the uplands is a key challenge for increasing agricultural production and improving farmer's livelihood. However, low pH (5.0), high aluminium saturation (>77%) and severe nutrients deficiencies represent strong agronomic constraints for this expansion (Gibson 1997, Hacker *et al.* 1998). To respond to this challenge, different cropping and livestock systems, based on CA principles and the moderate use of mineral fertilizer were initiated in 2007. Two years after grassland conversion into agricultural land, we observed, in controlled experiments, a significant improvement of top soil (0-10cm) physico-chemical characteristics (aggregate stability, organic carbon and cation exchange capacity) and microbial abundance (total biomass, bacterial and fungal densities) under CA rice-based systems as compared to the same rotational sequence conducted under conventional tillage (CT) system, and to the natural surrounding pasture (PAS) (Lienhard *et al.*, in press).

In this study, our specific objectives were to evaluate NIRS ability (i) to discriminate soils submitted to different land use management (agricultural vs. natural, no-till vs. till), and (ii) to predict soil physical, chemical, and microbial properties. Then, we used NIRS predictions (iii) to analyze CA systems effect on soil carbon (C) and nitrogen (N) content according to the experimental conditions (controlled vs. farmers) and soil depth (0-10 cm vs. 0-30 cm), since the benefits of CA systems, notably regarding soil C sequestration, have been shown controversial below top soil surface (Baker *et al.*, 2007; Ogle *et al.*, 2012).

2. Material and methods

2.1 Study area and agricultural systems

The Plain of Jars (Lat. 19°20' to 19°40'N, Long. 102°50' to 103°10'E) is a vast savannah grassland of about 80,000 ha located in Xieng Khouang Province, north-eastern Laos. The

elevation ranges from 1,000 to 1,200 m AMSL. The climate is tropical and mountainous with a 6-month (April-September) wet and hot season and a 6-month dry season including 3 months of cold (December-February). The mean annual precipitation is 1,400 mm. The soils are dominated by red Oxisols and Ultisols (USDA classification).

The CA experiments in controlled plots were conducted in Poa experimental site (Lat. 19°33'N, Long. 102°59'E, 1130 m AMSL, flat to gentle slope). A 3-year rotation of rice (*Oryza sativa* L.), maize (*Zea mays* L.), and soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) was initiated in 2008 under four management practices (three CA and one conventional tillage-based systems) and three levels of mineral fertilization (moderate to high) in a split-split plot experimental design with three replicates of 270 m² each, leading to a total of 108 sub-sub plots (Lienhard et al., in press).

The CA plots under farmers management were selected from experiments conducted in 12 villages of the Plain of Jars (Lienhard et al, 2008). The objective of these experiments was to test *in situ* the technical feasibility and the profitability of improved pastures for cattle fattening activities prior to test more diversified agricultural scheme with farmers. Improved pastures of ruzi grass (*Brachiaria ruzisiensis* cv *Ruzi*, 14 plots) and *B. brizantha* (*Brachiaria brizantha* cv *Marandu*, 10 plots) were direct seeded (no-till) in 2007 after the spraying of native grasses with total herbicide (glyphosate and 2.4D amin). The pastures received a fertilization of 60-80-60 and 30-40-30 kg of N-P205-K20 ha⁻¹ in 2007 and 2008 respectively, and nothing after that. Animal grazing started in 2008, with animal stocking rates varying strongly (0 to 6 heads ha⁻¹) among farmers and over time. Most of the forage plots appeared overgrazed at sampling time.

In both case, we took the surrounding unfertilized and little grazed (mean animal stocking below 0.3 heads ha⁻¹) native pasture as reference.

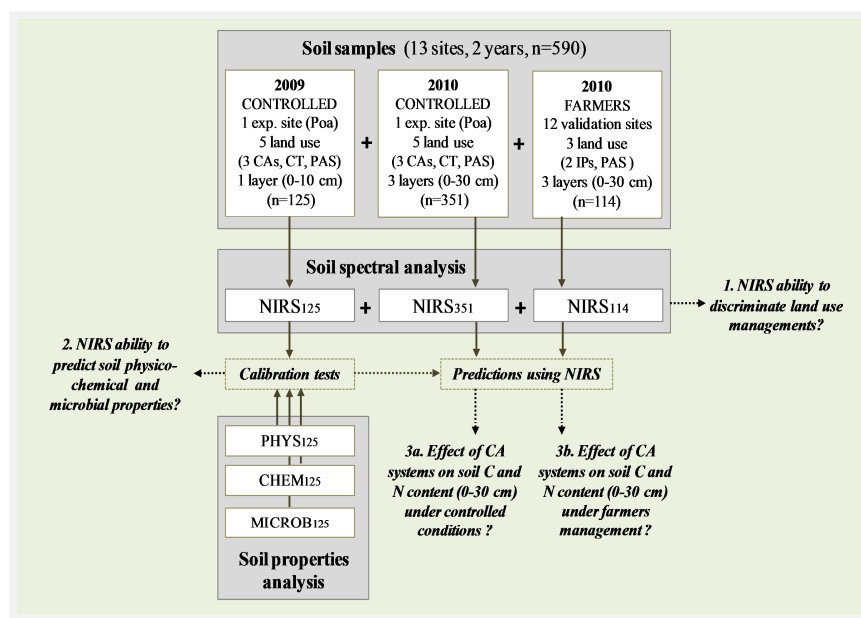
2.2 Experimental approach

Soil samples and NIRS spectra were collected in 2009 and 2010 (Figure IV.1). The 2-year spectral data (590 samples, with 309, 99, 72 and 110 samples for CA, CT, IP and PAS treatments respectively) were used to test NIRS ability to discriminate land use management. The 2009 NIRS data (125 samples) were used to test NIRS ability to predict soil properties. We used the 2010 NIRS data (465 samples) to analyze CA systems effect on soil C and N contents according to the experimental conditions and soil depth.

2.3 Soil sampling

The soil was sampled at three depths (0-10 cm, 10-20 cm, and 20-30 cm) in June 2009 and 2010 for the experiments conducted in Poa site, and in June 2010 for the experiments conducted in farmers field (Figure IV.1). For soil chemical, microbial and spectral analysis, a composite sample was made of a pool of five sub-samples taken in the diagonal of the plot. For soil bulk density and soil aggregate stability determination, randomized triplicates were taken for each plot. All soil samples were air-dried in shade, then softly hand-crushed and passed through a 2 mm-sieve before being sent to the laboratories.

Figure IV.1 Experimental approach for the evaluation of soil quality changes using NIRS

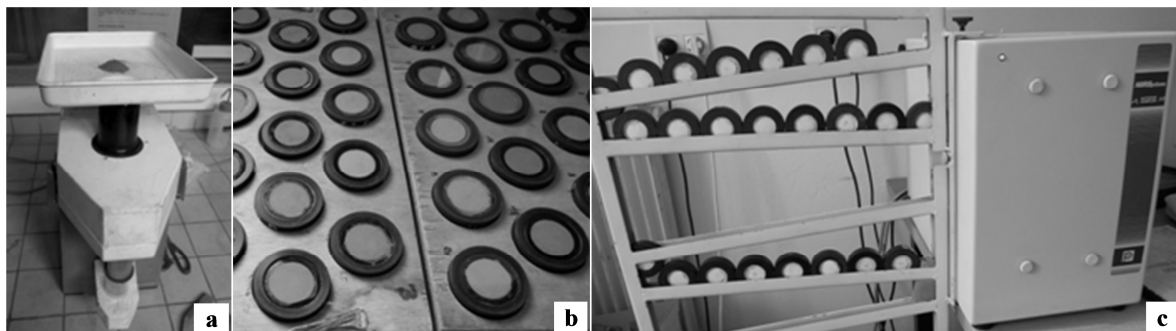


2.4 Soil NIRS analysis

Soil NIRS analysis was done at the CNRS-CEFE soil laboratory (Montpellier, France). In order to avoid biases related to differences in soil remaining moisture content, all soil samples were oven-dried during 24h at low temperature (45°C) to avoid modifying soil organic links. Soils were then passed through a turbine crusher (Cyclotec 1093 Sample Mill, Figure IV.2a) that avoids the heating of soil samples. Five grams of soil were then packed into a reading cell covered with quartz-glass (Figure IV.2b), and placed into a NIRSystems 6500 spectrophotometer (Figure IV.2c), to measure the reflected light. The spectrophotometer has a spectral range of 400–2500 nm, with 2-nm sampling intervals, producing an average spectrum of 1050 data points.

Reflectance (R) was converted to absorbance (A) using the equation $A = \log(1/R)$. Data were analyzed under the ISI software system (Shenk and Westerhaus, 1991) after having received the following mathematic treatments: standard normal variate (SNV) transformation and detrending, second derivate calculation, gap definition (Gap = 10), and smoothing (Smooth 1 =10, Smooth 2 =1).

Figure IV.2 Equipments used for NIRS analysis: a) soil turbine crusher (Cyclotec 1093 Sample Mill), b) reading cell with quartz-glass cover, and c) spectrophotometer (NIRSystems 6500)



2.5 Soil physical, chemical, and microbial analysis

The analyses of soil physical, chemical, and microbial properties were done in Poa experimental site (Laos), CIRAD soil laboratory (Montpellier, France), and GenoSol platform (INRA, Dijon, France) respectively, using procedures described in Lienhard et al. (in press). Rapidly, the soil bulk density (BD) was measured by using a 94 cm^3 density cylinder. Soil aggregate stability was estimated through the mean weight diameter (MWD) index, based on water stable aggregate distribution after wet-sieving under agitation (3.5 cm amplitude, 30 rotations per minute for 10 minutes). Soil texture was determined by sieving method (3 classes). Soil organic carbon (SOC) and total nitrogen (N) were quantified by dry combustion. Soil pH was measured in 1:5 soil/water slurry. The available phosphorus (P) was determined by using Olsen method, while the Cation Exchange Capacity (CEC), the sum of exchangeable bases (Ca, Mg, K, Na) and the exchangeable Aluminum (Al) were quantified by using cobalt hexamine chloride reagent. Soil microbial biomass was estimated through soil crude DNA concentrations determined by electrophoresis, while soil fungal and bacterial densities were determined by real time quantitative polymerase chain reaction (qPCR) of 18S and 16S ribosomal DNA (rDNA) respectively.

2.6 Statistical analysis

The principal component (PCA) and coinertia analysis were performed using the ADE-4 package (Thioulouse et al. 1997) under R software, and provided an ordination of data in factorial maps based on the scores of the first two principal components. A Monte Carlo test was performed with 1.000 permutations for the coinertia analysis to confirm the significance of the discriminated clusters. The calibrations between NIRS spectra and analytical data were done under the ISI software system and based on the partial least-squares regression (PLSR) principles (Martens and Naes 1989). The effects of land use management on soil C and N content were tested separately for each soil layer by one-way analysis of variance (ANOVA). Differences between means were tested by paired multiple comparison using Fisher (LSD) test ($P < 0.05$).

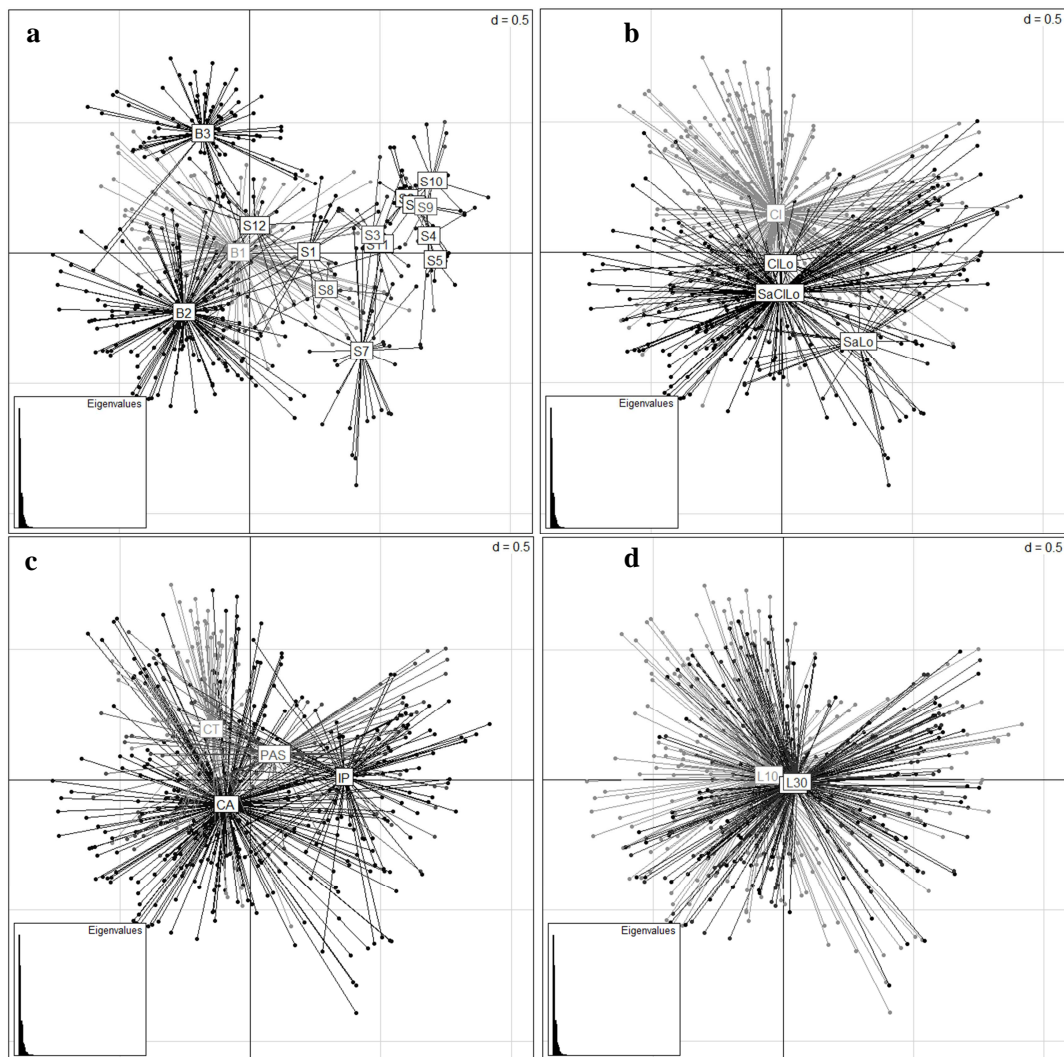
3. Results and discussion

3.1 NIRS ability to discriminate land use managements

The principal component analysis (PCA) performed on all NIRS data showed that the spectra were ordinated in the factorial map according to the decreasing influence of the location (sampling site, Figure IV.3a), the soil textural class (Figure IV.3b), the land use management (Figure IV.3c), and to a lesser extent, of the soil layer (Fig IV.3d). Even if limited in amplitude (<5%), the slope and the position of the plots in the slope may contribute strongly to the “site” effect through the transfer of soil material (soil organic matter and minerals). The soil particle distribution, which has been shown in turn to affect the NIRS spectra reflected (Sheperd and Walsh, 2002; Reeves 2010), was notably affected by the position in the slope in Poa experimental site, with a shift from clayey to sandy clayey loamy soils (USDA classification) observed from the top (B3) to the bottom (B2) of the slope (Figure IV.3a). In addition, the position of the plots in the slope may have contributed to further distinguish NIRS spectra by affecting the water and air circulation in soils, hence affecting their drainage ability (well drained *vs.* hydromorphic) and color (oxidized *vs.* reduced forms of Fe and Al oxides), which have been shown to affect in turn light reflection (Cozzolino and Moron 2003, Reeves, 2010; Stenberg et al. 2010). This was notably evidenced in Poa experimental site by the distinction of B3 (mid-slope, red clayey, and well-drained soils) and B2 (bottom slope, yellow-red sandy clayey loamy, and hydromorphic soils) replication blocks on the factorial map (Figure IV.3a). Finally, in line with the characteristics of Oxisols profiles (NRCS, 1999), we observed a little effect of soil depth on

NIRS spectra ordination (Figure IV.3d), with however more contrasted results when considering the soil layer effect according to land use management (data not shown).

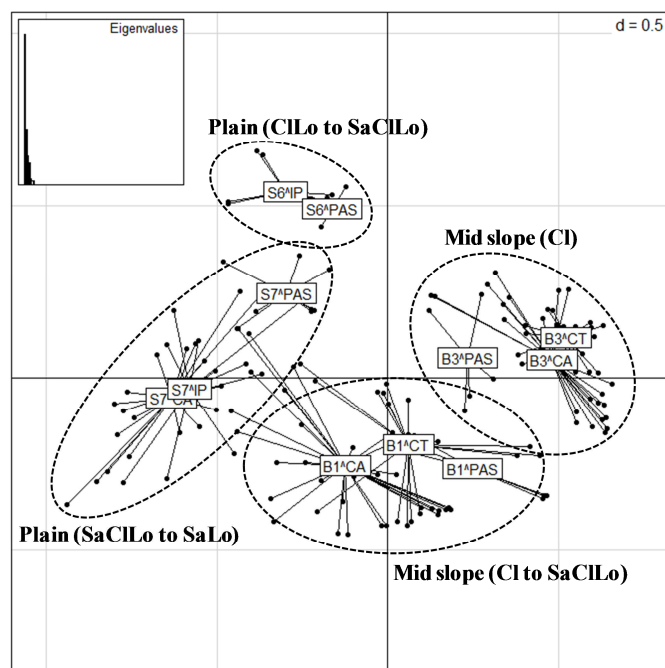
Figure IV.3 Factorial maps of the principal component analysis performed on all NIRS data (2009-2010, 13 sites, 3 layers, 562 samples), with classification of spectra according to a) sampling site, b) soil textural class (USDA classification) c) land use, and d) soil layer. Location: S1 to S12, villages where are located farmers experiments; B1 to B3, replication blocs in Poa experimental site. Land use: CA, conservation agriculture systems; CT, conventional tillage; IP, improved pasture, PAS, natural pasture. Soil layer: L10, L20 and L30, for 0-10cm, 10-20cm and 20-30cm respectively.



The PCA performed on NIRS data at the site level distinguished the unfertilized (PAS) vs. fertilized (CA, CT, IP) treatments, and to a lesser extent, the tilled (CT) vs. no-tilled (CA) treatments (Figure IV.4), thus despite a limited number of cultivation year (3 to 4 years), and a

high variability in farming system management (from optimized conditions in controlled plots to extensive and opportunistic management in farmers field).

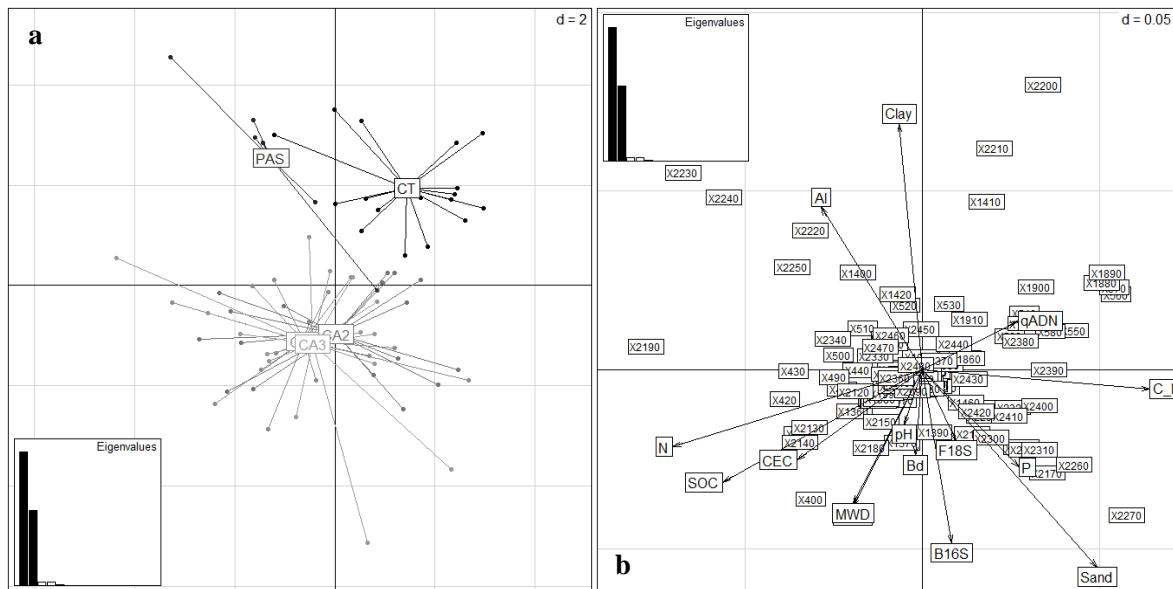
Figure IV.4 Factorial map of the principal component analysis performed on selected NIRS data (2010, 4 sites, 0-30cm, 165 samples). B1 and B3, replication blocs in Poa experimental site; S6 and S7, villages where are located farmers experiments. Land use: CA, conservation agriculture systems; CT, conventional tillage; IP, improved pasture, PAS, natural pasture.



Our results are consistent with other studies that showed the possibility of using NIRS to discriminate land use management in more contrasted agricultural systems (e.g., Velasquez et al., 2005: perennial vs. annual cropping systems) and/or after a longer period of cultivation (e.g., Fuentes et al., 2012: soils with or without residues during more than 15 years).

The coinertia analysis performed between the soil physical, chemical and microbial characteristics, and the NIRS data showed a significant difference (Monte Carlo test p-value <0.001) between non-cultivated and cultivated plots (Fig 5a), according to soil exchangeable aluminum (Al) and available phosphorus (P) content (Figure IV.5b), with higher Al saturation and lower P observed under PAS (Figure IV.5a). The cultivated soils were distinguished according to soil organic matter status (soil organic carbon and total nitrogen), nutrients availability (cation exchange capacity and the sum of exchangeable bases), and soil aggregate stability (mean weight diameter, Figure IV.5b), which were all found higher under CA systems than under CT (Figure IV.5a).

Figure IV.5 Factorial maps of the coinertia analysis performed between the PCA of soil physical, chemical and microbial characteristics, and the PCA of NIRS data (Poa, 2009, 0-10cm, Cl to ClLo soils, 71 samples). Land use: CA, conservation agriculture systems; CT, conventional tillage; PAS, natural pasture. SOC, soil organic carbon; N, total nitrogen; C_N, carbon to nitrogen ratio; P, available phosphorus; Base, sum of exchangeable bases; Al, exchangeable Aluminum; CEC, cation exchange capacity; Bd, bulk density; MWD, mean weight diameter; qADN, microbial molecular biomass; B16S, bacterial density; F18S, fungal density.



Altogether, our results show that NIRS could be successfully used to discriminate, at the regional scale, different sites according to their physical (soil texture, drainage capacity) and organic status, and at the plot scale, different land use management according to their organic (SOC and N), chemical (nutrients content, Al saturation) and physical (aggregate stability) properties.

3.2. NIRS ability to predict soil properties

NIRS predictions were highly satisfactory for soil texture, notably for sand and clay, with correlation coefficients (r^2) of 0.97 and 0.95 respectively (Table IV.1). The precision of the predictions, as estimated by the ratio of percentage deviation (RPD) corresponding to the standard deviation (SD) to the standard error of cross validation (SECV) ratio, was satisfactory with RPD values higher than 3 (considered as baseline value, Table IV.1), and similar to other studies (Shepherd and Walsh 2002; Madari et al. 2005; Viscarra Rossel et al. 2006; Stenberg et al. 2010).

NIRS predictions for soil chemical components were less satisfactory than for soil texture, but still acceptable for SOC and total N, with r^2 above 0.90 and RPD values close to 3 (Table IV.1). Despite the limited range of SOC (22 to 44 g kg⁻¹) and total N (1.7 to 3.4 g kg⁻¹, Table IV.1) values in our soil set, our results confirmed that SOC and total N are determinable by NIRS, in line with most studies considering the potential of the NIRS in soil sciences (e.g., Reeves, 2010; Genot et al. 2011; Kuang and Mouazen 2011). In addition, Sternberg et al. (2010) established a relationship between the precision of NIRS predictions and the standard errors of calibration sets, based on studies conducted in temperate regions. Our results fit with this general scheme, and confirm that this relationship is also applicable for tropical areas. NIRS ability to predict the other minerals in soils was moderately (Ca, Mg) to poorly (available P, K) successful, with r^2 of 0.86 and 0.72 for Ca and Mg respectively, and r^2 below 0.65 for P and K (Table IV.1). Our results fit with the range of r^2 values reviewed by Stenberg et al. (2010), with r^2 notably closed to the maximal values for Ca and Mg. However, the precisions of the predictions were low for all these minerals with RPD values below 2 (Table IV.1), which may be explained by the absence of direct absorption peaks for these elements in the spectral range corresponding to the near infrared (Stenberg et al. 2010; Williams and Norris 2001). Similarly, NIRS predictions for soil pH were poor and non-operational (Table IV.1). This result is consistent with most studies (Chang et al. 2001; Pirie et al. 2005; Mouazen et al. 2006), even if the strong relations existing between carbonates, CEC, and pH may allow acceptable pH predictions using NIRS (Islam et al. 2003).

NIRS predictions were poorly successful for soil physical attributes, with r^2 and RPD lower than 0.35 and 1 respectively for both soil bulk density and the mean weight diameter (MWD) of particles (data not shown), thus despite significant differences between cropping treatments (Lienhard et al., 2013). Our results are contrary to Moreira et al. (2009) who successfully predicted soil bulk density using NIRS for soils conducted however under similar tillage systems (reforested areas of various ages). Significant negative correlations have been established at macro scale between SOC, which is well predicted by NIRS, and soil bulk density (Craswell and Lefroy, 2001). Similarly, significant positive correlations have been demonstrated between SOC and soil macro-aggregates (> 0.25mm) content (Six et al., 2002). Our results suggest that soil physical properties are more affected, at micro scale and in the short-term, by the

differences in tillage management (direct mechanical action of tilling tools on soil physical properties), which are hardly predictable by NIRS, than by SOC.

Similarly, NIRS predictions were poorly successful for soil microbial attributes, with r^2 and RPD lower than 0.3 and 1 respectively for soil microbial biomass, soil bacterial and fungal densities (data not shown), thus despite significant differences between cropping treatments (Lienhard et al., 2013). Our results are contrary to Cécillon et al. (2008) who successfully predicted soil microbial biomass using NIRS for soils conducted under similar tillage systems. At macro scale, positive correlations have been established between SOC and soil microbial biomass (Martiny et al., 2006; Dequiedt et al., 2011). As for soil physical attributes, our results suggest that soil microbial properties are more affected, at micro scale and in the short-term, by tillage management than by SOC, and are therefore hardly predictable using NIRS when the soil samples used for NIRS calibration are coming from strongly different tillage management. Soil samples showing similar SOC may, for instance, exhibit different soil microbial properties according to tillage management since soil physical disturbance has been demonstrated to strongly affect soil water content, temperature, aeration, nutrients access, microorganisms habitat, as well as fungal hyphal growth (Dick 1992; Frey et al. 1999; Kladivko 2001; Ranjard and Richaume 2001; Six et al. 2002).

Table IV.1. Prediction of soil physico-chemical properties using NIRS (125 samples). Nb: number of samples used for calibration, SD: standard deviation, SECV: standard error of cross validation, RPD: ratio of percentage deviation (SD to SECV ratio). SOC, soil organic carbon; Σ base, sum of exchangeable bases (Ca^{2+} , Mg^{2+} ; K^+ , Na^+); CEC, cation exchange capacity.

Characteristic	Nb	Min	Max	Mean	SD	r^2	SECV	RPD
Texture								
Clay (%)	108	13.8	65.2	38.6	14.9	0.95	3.7	4.0
Sand (%)	106	13.5	72.8	43.7	15.7	0.97	4.0	3.9
Silt (%)	106	11.8	34.4	17.7	4	0.80	2.2	1.8
Chemical								
SOC (g kg^{-1})	123	21.8	44.0	35.5	0.77	0.94	0.3	2.9
Total N (g kg^{-1})	120	1.71	3.42	2.51	0.61	0.90	0.2	2.9
Ca (cmol kg^{-1})	120	0.11	5.44	2.48	1.11	0.86	0.7	1.7
Σ base (cmol kg^{-1})	120	0.35	8.10	3.61	1.63	0.79	1.0	1.6
Mg (cmol kg^{-1})	123	0.04	2.18	0.9	0.43	0.72	0.3	1.4
CEC (cmol kg^{-1})	121	1.05	8.28	3.96	1.47	0.73	1.0	1.4
P Olsen (mg kg^{-1})	123	2.0	18.6	9.4	3.98	0.62	3.0	1.3
pH (1:5)	121	4.4	6.1	5.4	0.27	0.33	0.2	1.2
K (cmol.kg^{-1})	119	0.05	0.51	0.18	0.08	0.58	0.1	1.1

3.3 Evaluating CA systems effect on soil C and N content using NIRS

The evaluation using NIRS of agricultural systems effect on soil organic carbon (SOC) and total nitrogen (N) in controlled plots showed that soil organic status varied differently according to the considered analyte, the soil layer and the land use management (Figure IV.6).

Regarding SOC, we observed different trends of SOC distribution into the soil profile depending on tillage system, with SOC content decreasing and migrating steadily from 0-10 cm to 20-30 cm layer under no-till systems (CA, PAS), while the highest SOC content under the tilled system (CT) was found for the 10-20 cm layer (Figure IV.6a), corresponding to the mean depth of crop residues burial under tillage. At the soil surface (0-10 cm), SOC decreased significantly along the gradient $CA > PAS > CT$ (Figure IV.6a) due to the combination of higher crop residue restitution under CA systems (Lienhard et al., in press) and an increased SOC mineralization rate under tillage (Six et al., 2002). These results are consistent with previous results obtained on the same experimental site (Lienhard et al., in press) and with most studies evaluating tillage systems effect on SOC at the soil surface (Balesdent et al., 2000; Baker et al., 2007; Ogle et al., 2012). Unlike Baker et al. (2007), but in line with Derpsh et al. (2010), we found that SOC was still significantly higher under CA than under PAS and CT when considering the 0-30 cm layer, confirming the potential of CA for C sequestration and improved crop productivity when associated with sufficient residues restitution (Govaerts et al., 2007). Surprisingly, SOC was not significantly different between PAS and CT at 0-30 cm (Figure IV.6a). This could be related to higher and more diversified crop residues restitution under CT than under PAS (Lienhard et al., in press), and to a low microbial biomass, diversity, and activity in this specific environment (strongly acid, weathered and Al saturated soils, with long-term dry and fresh season).

Contrary to SOC, the N distribution into the soil profile depended more on land use than tillage management, with lower N content observed on 0-10 cm under cultivated treatments (CA and CT) than under non-cultivated treatment (PAS), but higher N content observed under CA and CT than under PAS on 10-30 cm (Figure IV.6b). The lower N content observed under cultivated fields at the soil surface might be related to an increase in the N used by microorganisms for the degradation of higher amounts of residues, in a context of N deficiency (Hacker et al., 1998). However, these differences were not significant on 0-30 cm (Figure IV.6b).

We observed similar trends regarding SOC and total N distribution in the soil profile in plots under farmers management (Figure IV.7), thus despite a high variability of improved pasture management among farmers, and a high variability of SOC and N content among sites as indicated by the standard deviation values of PAS. SOC decreased along the gradient IP briz > IP ruzi > PAS (Figure IV.7a) at both 0-10 cm and 0-30 cm, indicating that *B. brizantha* is more suitable than *B. ruzi* for C sequestration under the conditions of intensive grazing and little use of fertilizers.

Altogether, our results show that, regardless of the experimental conditions, the combination of CA principles and moderate fertilizer use led to an improvement of SOC content on the whole cultivated layer (0-30 cm), as compared to the conventional tillage-based system and the natural surrounding pasture.

Figure IV.6 Soil organic carbon (a) and total nitrogen (b) content according to soil layer and agricultural management (Poa, 2010, clayey soils, 171 samples). PAS, natural pasture (9 replicates per layer); CT, conventional tillage (12 replicates per layer); CA, conservation agriculture (mean value of the 3 CA systems, 36 replicates per layer). The layer 0-30 cm represents the mean value of the 3 above layers. Error bars indicate standard deviations of the means. Letters between brackets indicate significant differences according to ANOVA, Fisher test ($P < 0.05$).

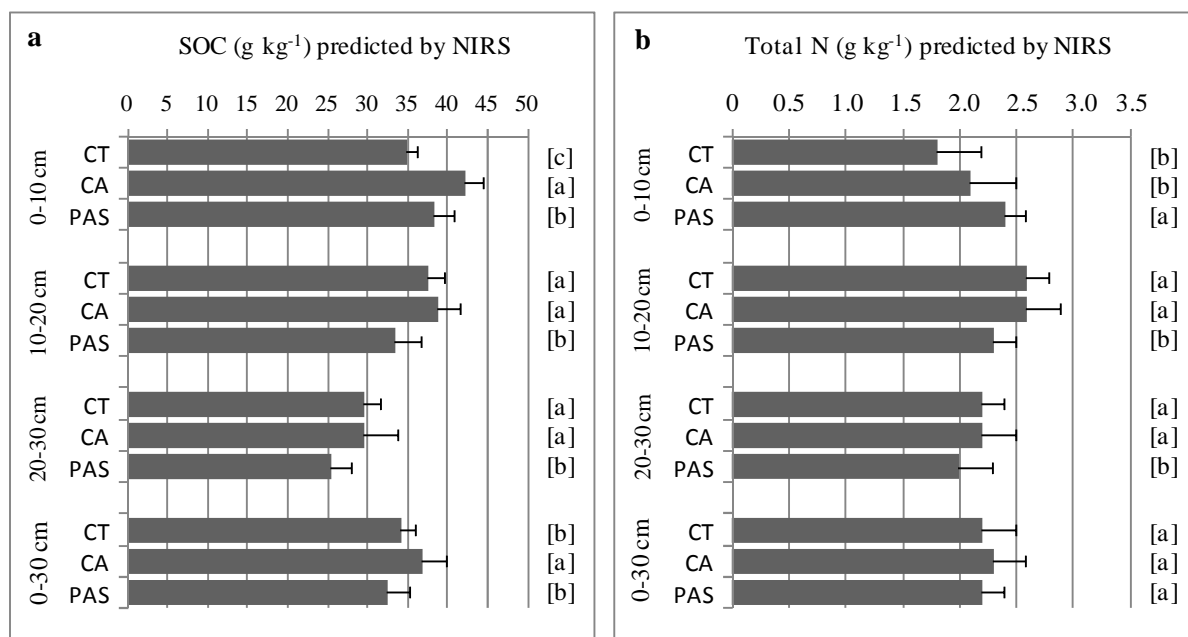
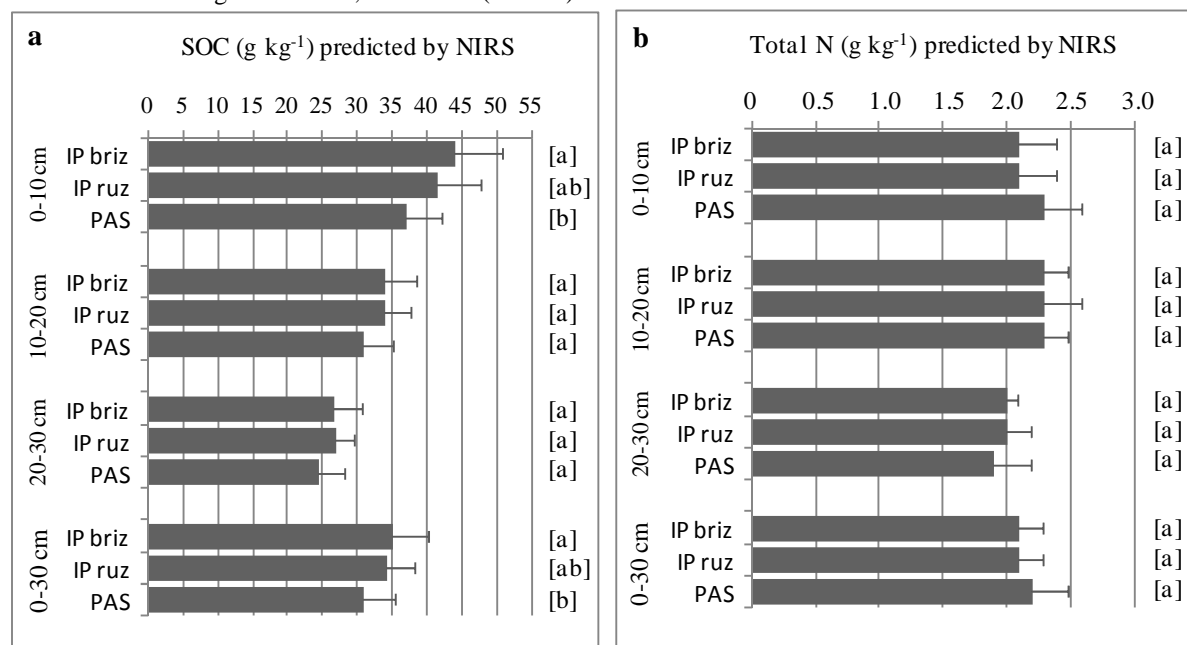


Figure IV.7 Soil organic carbon (a) and total nitrogen (b) content according to soil layer and agricultural management (12 sites, CI to SaCILo soils, 97 samples). IP briz, improved pasture of no-till *Brachiaria brizantha* (cv Marandu, 10 replicates per layer); IP ruz, improved pasture of no-till *Brachiaria ruziziensis* (cv Ruzi, 14 replicates per layer); PAS, natural pasture (14 replicates per layer);. The layer 0-30 cm represents the mean value of the 3 above layers. Error bars indicate standard deviations of the means. Letters between brackets indicate significant differences according to ANOVA, Fisher test ($P < 0.05$).



4. Conclusion

In an acid tropical grassland environment, our results show that NIRS clearly discriminated the different sampled sites according to their physical (soil texture, drainage capacity) and organic properties. At plot scale, NIRS ranked the different land use management according to their organic (SOC and total N), chemical (Al saturation, available P, CEC, exchangeable bases) and physical (aggregate stability) properties. The best soil quality was found under agricultural systems combining conservation agriculture principles (no-till, mulch, and diversified rotations) and a moderate use of fertilizers. In addition, NIRS predictions were highly satisfactory for clay, sand, SOC and total N. Altogether, our study 1) highlights the substantial role that NIRS could play in reducing analysis cost and time notably regarding carbon inventory and sequestration, and 2) shows that CA could represent a relevant alternative to current tillage-based agricultural systems for expanding agricultural production in a marginal environment like the acid savannah grasslands of the Plain of Jars.

Acknowledgements. The authors would like to thank the French Development Agency (AFD), the French Global Environment Facility (FFEM) and the French Ministry of Foreign Affairs for their financial support.

Chapitre 5

Conclusion synthétique et perspectives

1. Conclusions

1.1 Rappel des objectifs de la thèse et de la démarche méthodologique

Cette thèse a pour objectifs d'évaluer, pour un contexte spécifique de savane herbacée acide en zone tropicale humide :

- 1) l'impact, à l'échelle de la parcelle agricole, de systèmes SCV *vs.* labour sur la productivité du sol, les revenus agricoles, et les propriétés physiques, chimiques et microbiologique des sols,
- 2) les liens fonctionnels existant entre les pratiques culturales, la diversité des communautés microbiennes et la dynamique du carbone (C) dans le sol et,
- 3) l'utilisation potentielle de la spectroscopie dans le proche infrarouge (NIRS) comme indicateur synthétique de la qualité des sols et outil de pilotage de systèmes de culture.

Le dispositif expérimental étudié est constitué de parcelles expérimentales conduites principalement en milieu contrôlé (dispositif expérimental de Ban Poa), et dans une moindre mesure, en milieu paysan (réseau de parcelles pilotes).

Les analyses et conclusions de ce travail sont basées sur des données collectées :

- 1) au champ, pour les données agronomiques (productivité du sol) et économiques (revenu agricole, productivité du travail),
- 2) en laboratoire, pour la caractérisation des propriétés chimiques (analyses de sol), physiques (densité apparente, stabilité des agrégats), microbiologiques (biomasse microbienne, densités bactériennes et fongiques, structures et diversité des communautés microbiennes), et spectrales (réflectance dans le proche infrarouge, NIRS) ; ainsi que pour la mesure des activités microbiennes (turnover du carbone).

1.2 Effet de systèmes SCV *vs.* labour sur la productivité des sols et les revenus agricoles

Après trois années de culture, les résultats agronomiques et économiques sont favorables aux systèmes SCV avec des rendements en grains et des marges brutes à l'hectare similaires à supérieurs à ceux du labour, et des productivités du travail et des rendements en biomasse aérienne supérieurs à ceux du labour.

Ils nécessitent cependant un investissement financier initial (équipement agricole spécifique, plantes de couverture) et une maîtrise technique (semis dans un couvert végétal,

gestion des associations et de la compétition entre plantes) plus importants qu'en itinéraire conventionnel labour, ce qui les rend économiquement plus risqués à court terme.

L'analyse comparative des performances agronomiques et économiques est cependant bordée et limitée par les échelles temporelles et spatiales d'investigations. Ces résultats et conclusions correspondent à une évaluation à court terme (après trois saisons culturales) réalisée principalement en milieu contrôlé et sur un seul site expérimental. De fait, des interrogations subsistent quant aux performances agro-économiques de ces systèmes à plus long terme, et en milieu paysan. Nous nous attendions notamment à une diminution plus rapide et significative des rendements en grain sous labour : les variations de rendement observées lors des deux dernières campagnes agricoles (Annexe 2) semblent plus le fait des variations pluviométriques et de la maîtrise de l'enherbement que d'une baisse globale de la fertilité chimique des sols sous labour (chapitre 4). La question de l'évolution future de la productivité en itinéraire conventionnel labour se pose: va-t-on observer un « décrochage » de la production agricole ? Si oui, au bout de combien de temps ? et pour quelles raisons (baisse de la fertilité ? bilan hydrique défavorable ? maîtrise plus difficile de l'enherbement ?). On peut également s'interroger sur l'évolution à plus long terme de la productivité sous systèmes SCV. Plusieurs auteurs ont décrits une diminution de l'espace poral liée à la suppression du travail mécanique du sol (Guérif, 1994 ; Teasdale et al., 2007 ; Kirkegaard et al., 2011). L'augmentation de la densité apparente observée dans notre étude sous systèmes SCV (chapitre 3.1) n'a pas eu d'impacts sur la productivité des sols pour la période étudiée (Annexe 2). La question de l'évolution future de la porosité des sols sous systèmes SCV, et de son impact sur la production agricole, se pose néanmoins.

Ces questions soulignent la nécessité 1) d'évaluer désormais ces systèmes agricoles chez et par les agriculteurs (voir perspectives) et 2) de pérenniser les dispositifs expérimentaux pour pouvoir évaluer ces modes d'usage agricoles sur le long terme.

1.3 Effet de systèmes SCV vs. labour sur les propriétés chimiques, physiques et microbiologiques des sols

Malgré le nombre limité de campagnes agricoles, on observe un impact significatif des modes d'usage sur les propriétés physiques, chimiques et microbiologiques des sols. Contrairement au labour, les systèmes SCV permettent d'améliorer la qualité initiale (i.e., celle de la prairie naturelle) des propriétés physico-chimiques des sols (en termes de stabilité des

agrégats, teneurs en MOS, somme des bases échangeables) tout en maintenant l'abondance et la structure des communautés microbiennes (biomasse totale, abondance et diversité des communautés bactériennes et fongiques).

La séquestration du carbone et la stabilisation des MOS sont considérés comme des éléments essentiels dans les processus de lutte et d'adaptation aux changements climatiques, et dans les stratégies d'amélioration de la productivité agricole et de la sécurité alimentaire (IPCC, 2007 ; FAO, 2009). De fait, le maintien des propriétés organiques observé sous systèmes SCV indiquent que la production agricole est plus durable sous ces systèmes que sous système labour.

Ces conclusions sont cependant limitées par les échelles et les outils d'investigations : les propriétés des sols, et les services écosystémiques qui y sont liés, sont fortement dépendants des modes de préparation parcellaire, mais également de la quantité et de la qualité des résidus végétaux restitués au sol (Naudin, 2012). Quel que soit le système considéré (SCVs ou labour), nos résultats ne permettent pas de prédire l'impact de modifications des restitutions organiques (en nature et/ou volume des résidus restitués) sur les propriétés des sols, et notamment sur les propriétés microbiologiques des sols. Hors, la quantité de résidus restitués peut varier de façon importante dans l'espace (diversité parcellaire, diversité des opérateurs) et dans le temps (année climatique atypique, problème de mise en place ou de protection parcellaire, modifications des niveaux de fertilisation etc.). La modélisation suscite de nombreux espoirs, notamment pour prédire les dynamiques du carbone dans les sols (Naudin, 2012). L'utilisation de la modélisation pour prédire les propriétés microbiologiques des sols et intégrer leur rôle dans ces dynamiques reste néanmoins à ce jour très limitée (Pascual et al., 2010).

L'analyse comparée de l'impact de systèmes SCV vs. Labour sur la qualité des sols est également limitée par les indicateurs retenus. Dans le cadre de ce travail, nous avons choisi d'utiliser les indicateurs microbiens comme indicateurs synthétiques de la qualité des sols, compte tenu de leur grande sensibilité et réactivité, de leur rôle écologique, et de leur capacité à fournir des informations qui intègrent un grand nombre de facteurs environnementaux (Nannipieri et al., 2003 ; Huang et al., 2013). Cependant, nous n'avons pas utilisé d'indicateurs permettant de quantifier de façon plus précise la qualité sanitaire du sol et/ou des grains produits. Durant la période étudiée, la quantité de pesticides, et notamment d'herbicides, a été significativement plus importante sous systèmes SCV que sous système labour (Annexe 3). Même si les herbicides utilisés (notamment le glyphosate) sont peu persistents, relativement

immobiles dans le sol, et biodégradables par la microflore du sol (Schuette, 1998), les risques potentiels liés à leur utilisation (pollution, intoxication) et à leur devenir dans le sol (effet cumulatif sur l'abondance et la diversité des communautés microbiennes) manquent à cette analyse comparative d'impact de modes d'usage sur la qualité du sol.

1.4 Liens fonctionnels existant entre pratiques culturales, diversité des communautés microbiennes et dynamique du carbone (C) dans les sols

Nos résultats montrent un lien positif entre, d'une part, la minéralisation des résidus de culture et la richesse et diversité bactérienne sous le traitement labour, et d'autre part, entre la minéralisation du carbone des sols, le *priming effect* (i.e., processus de sur-minéralisation du carbone organique natif des sols suite à l'apport de substrats riches en énergie) et la richesse et diversité fongique sous pâturage naturel.

Ces résultats sont contraires au postulat proposé par Nannipieri et al. (2003) selon lequel une altération de la composition des communautés microbiennes d'un sol influencerait peu sur le fonctionnement de ce sol, compte tenu des redondances fonctionnelles existantes entre les différentes communautés microbiennes du sol. Nos résultats soulignent au contraire le rôle de cette diversité dans les dynamiques du carbone dans les sols, et montrent qu'il est possible de piloter la diversité microbienne via les pratiques agricoles, pour améliorer le fonctionnement biologique des sols.

Les systèmes SCV se positionnent comme des situations écologiques intermédiaires entre labour et pâturage naturel, et représentent, de fait, un bon compromis entre le besoin de minéraliser les MOS, pour répondre au besoin de l'intensification agricole, et celui de protéger et stabiliser les MOS pour assurer la durabilité de la production agricole, contribuer à la régulation du climat etc.

Au bout de trois saisons culturales, nous n'avons pas observé d'impact significatif des systèmes agricoles sur l'abondance relative entre communautés fongique et bactérienne (ratio F:B), qui est un indicateur largement utilisé pour évaluer l'impact de changements environnementaux sur la structure et le fonctionnement des communautés microbiennes telluriques (Strickland et al., 2009). Nous avons, cependant, observé un impact significatif des modes d'usage agricoles sur la diversité relative entre communautés fongique et bactérienne, avec un ratio « diversité F sur diversité B » plus faible sous système labour que sous systèmes

SCV et pâturage naturel. Ces résultats suggèrent que les mesures de diversité sont plus sensibles que les mesures de densité pour mettre en évidence l'impact précoce de modes d'usage sur la structure et le fonctionnement des communautés microbiennes des sols.

Comme suggérés par Nannipieri et al. (2003), ces modifications de diversité relative entre communautés fongiques et bactérienne pourraient cependant n'être que transitoires et doivent, de fait, être confirmées à des échelles spatiales et temporelles plus importantes.

Nos résultats ne permettent pas par ailleurs de préjuger des capacités de résilience des systèmes en cas de modifications des itinéraires techniques : comment évolueraient ces communautés microbiennes et le fonctionnement respiratoire des sols en cas de suppression ou de diminution de la fréquence du travail du sol sur les traitements labourés ? Similairement, quel serait l'impact de pratiques compensatoires (amendements organiques, utilisation de plantes de couvertures associées) sur les communautés microbiennes et le fonctionnement biologique des sols en itinéraire labour ?

1.5 Potentiel de la NIRS come indicateur synthétique de la qualité des sols

L'analyse en composante principale des spectres bruts montre une différenciation nette des différents terroirs villageois et des modes d'usage au sein de ces terroirs. L'utilisation de la NIRS pour prédire les caractéristiques des sols se montre par ailleurs très satisfaisante pour la texture, et les teneurs en carbone et azote du sol, mais moyennement à peu satisfaisante pour les autres caractéristiques du sol.

Son utilisation comme outil de pilotage de la qualité des sols dépend principalement de l'accessibilité aux bases de données spectrales et aux outils de traitement informatique de ces données.

1.6 Conclusion générale

Dans un contexte de lutte contre la pauvreté et d'amélioration nécessaire de la productivité agricole, les systèmes SCV testés apparaissent, pour ces zones de savane herbacée acide, comme une alternative agronomique et économique crédible à l'intensification conventionnelle basée sur le labour. Ces systèmes agricoles doivent désormais être évalués chez et par les agriculteurs, sur des échelles d'intervention et d'analyses plus larges. Des appuis institutionnels (organisation des producteurs, sécurisation du foncier), techniques (formation et

appuis techniques) et financiers (crédits bonifiés, paiements éventuels pour services environnementaux), inscrits dans la durée, seront dans tous les cas nécessaires pour favoriser leur expérimentation et leur adoption éventuelle en milieu paysan. Pour être socialement mieux acceptés, ces systèmes devront également tendre vers une diminution des intrants chimiques externes (engrais, pesticides).

Dans un contexte d'intensification écologique (i.e., de pilotage des processus biologiques et des interactions biotiques des agroécosystèmes) et d'adaptation au changement climatique, les systèmes SCV testés apparaissent également plus durables que les systèmes sous labour car ils permettent un maintien voir une amélioration des teneurs en matières organique des sols (MOS). Ils permettent également l'établissement d'assemblages taxonomiques et fonctionnels microbiens assurant un compromis acceptable entre les processus de minéralisation des MOS, nécessaires pour répondre au besoin de la production agricole, et les processus de stabilisation des MOS, nécessaires pour assurer d'autres services de régulation (tels que la régulation des gaz à effet de serre) également importants pour l'homme et son environnement.

Dans un contexte de recherche d'indicateurs permettant de caractériser les propriétés et le fonctionnement biologique des sols, nos résultats ont mis en évidence l'intérêt du ratio « diversité fongique sur diversité bactérienne » pour caractériser l'impact précoce des modes d'usage sur les structures microbiennes et les dynamiques de carbone dans le sol, une valeur faible de ce ratio indiquant un état de stress fort des communautés microbiennes et un comportement trophique globale de ces communautés à dominance copiotrophe (stratégies-r), alors qu'une valeur forte de ce ratio indiquerait à contrario un état de stress faible et un comportement trophique global à dominance oligotrophe (stratégies-K).

Pour finir, nos travaux confirment la sensibilité et la robustesse des outils moléculaires pour la caractérisation des propriétés microbiologiques des sols (biomasse totale, abondance et diversité des communautés bactériennes et fongiques). Le séquençage haut débit de fragments d'ADN cibles (ou pyroséquençage), apparait notamment comme un outil prometteur pour approfondir les connaissances sur la structure et la diversité taxonomique des communautés microbiennes des sols, et sur la signifiante fonctionnelle de ces communautés.

2. Perspectives

2.1 Evaluer ces systèmes chez et par les agriculteurs

L'expérimentation de ces systèmes agricoles chez et par les agriculteurs doit permettre de co-évaluer avec les bénéficiaires l'opérationnalité, les performances et les impacts des systèmes agricoles testés, dans des conditions expérimentales moins contrôlées qu'en station (deuxième étape de l'approche méthodologique DDATE, Figure I.12). Ce changement d'échelle expérimentale doit également permettre d'anticiper les contraintes (financières, institutionnelles, techniques) observées lors des premières évaluations et de tester des modalités d'accompagnement de ces innovations techniques.

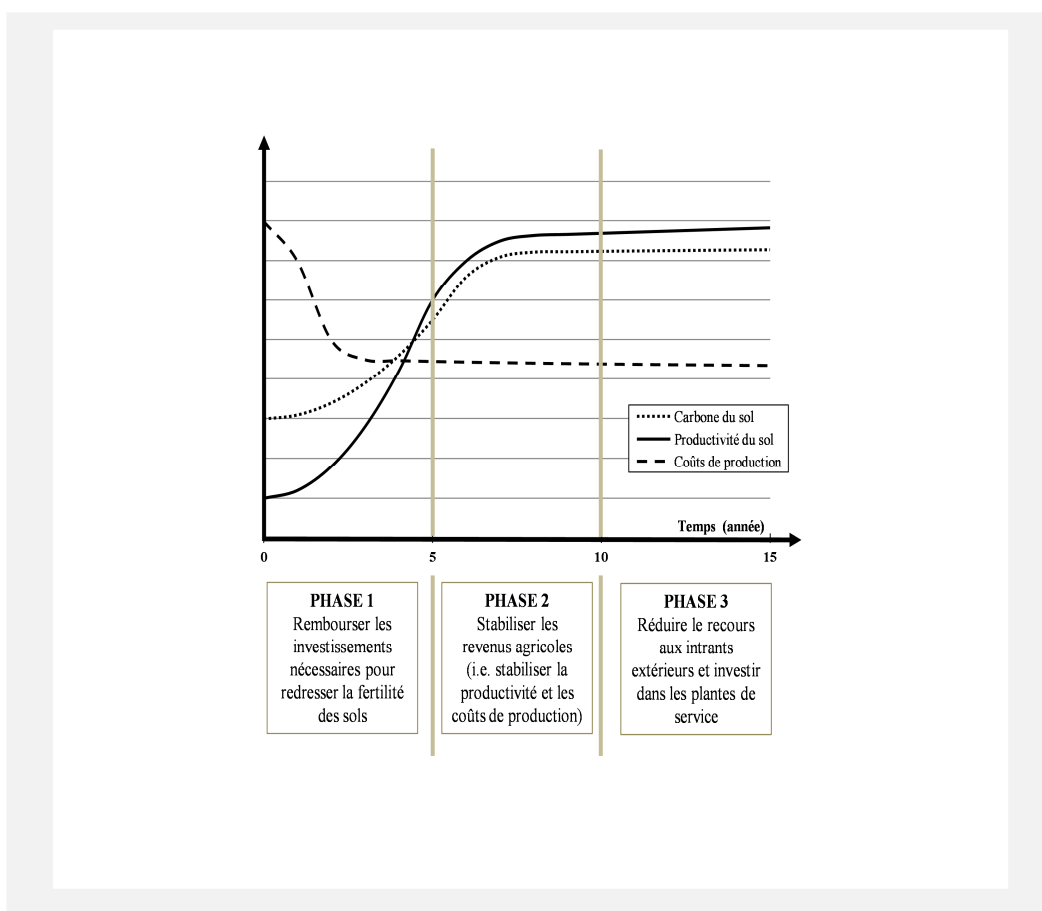
D'un point de vue financier, Wampfler et al. (2013) décrivent trois voies possibles pour soutenir l'innovation technique en milieu paysan : l'aide publique au développement sous forme de projet, l'action collective par le biais de la caution solidaire, et l'action publique. Dans le contexte spécifique du Laos et de la Plaine des Jarres, ces trois modalités sont envisageables et à envisager pour financer l'expérimentation et l'évaluation de systèmes agricoles innovants en milieu paysan. Un projet de Recherche-Développement financé par l'aide publique au développement permettrait d'appuyer ces activités de recherche-action d'un point de vue organisationnel (organisation des producteurs et des filières, facilitation de l'accès au crédit agricole), scientifique (critères d'évaluation et indicateurs pertinents en milieu paysan), et technique (formation et appui technique aux agriculteurs). Depuis Novembre 2011, le principe de la caution solidaire est accepté par les principales banques d'état en appui au développement rural intervenant dans la zone (la banque des pauvres et la banque de promotion agricole) pour l'octroi de prêts bancaires aux agriculteurs. La négociation de prêts à moyen terme et à taux d'intérêt bonifiés permettrait de financer les investissements nécessaires pour la mise en valeur agricole de ces terres marginales (correction des déficiences minérales, clôture, achat d'équipements agricoles). Enfin, pour ce qui est de l'action publique, la subvention d'engrais organiques (broyat de calcaire, thermophosphate) et/ou de semences de plantes de couverture (*Eleusine coracana*, *Cajanus cajan*, *Stylosanthes guianensis*), pourrait être testée à titre de paiement pour service environnemental.

D'un point de vue institutionnel, la sécurisation des agriculteurs sur le foncier² permettrait de favoriser les investissements initiaux à réaliser pour l'expérimentation de ces systèmes innovants. La restructuration récente du Ministère de l'Agriculture et des Forêts (MAF) laotiens a abouti à la création en Décembre 2012 d'un département de gestion et de développement des terres agricoles (DALaM), en charge, notamment, à l'échelle du territoire national du zonage des terres agricoles et de l'attribution de titres fonciers individuels (Lestrelin et al. 2012c). De nouvelles approches et outils de zonage participatif des terroirs villageois ont par ailleurs récemment été développés et validés par les pouvoirs publics (PLUP, *Participatory Land Use Planning* ; Castella et al. 2013). L'expérimentation de systèmes agricoles innovants en milieu paysan permettrait de tester ces nouveaux outils (zonage et titrage foncier) et approches (PLUP) autour d'« objets techniques » clairement identifiés.

D'un point de vue technique, les systèmes SCV nécessitent l'apprentissage de savoirs et de savoir-faire nouveaux incluant notamment l'utilisation et la gestion de plantes de service, et la maîtrise de semis dans des couverts végétaux. L'existence d'un site de démonstration (Ban Poa) et de personnels qualifiés doit faciliter la formation et à l'appui technique de groupements d'agriculteurs pilotes.

² Contrairement aux bas-fonds aménagés, pour lesquels le statut foncier des terres est clair (titres fonciers individuels ou droits individuels reconnus), le statut foncier des zones de pâturages naturels est plus ambigu : ces terres ont le plus souvent un statut de terres communales (espace de vaine pâture collective) gérées soit par les autorités des villages, des districts ou de la province ; mais elles peuvent également être attribuées à des particuliers sous forme de concession temporaire, ces concessions étant octroyées par les autorités des villages, des districts ou de la province selon le statut des terres (Mr. Khamsy, PAFO Xkg, com. perso., 04/2007).

Fig. V.1 Etapes et priorités dans la conception de systèmes innovants en milieu contraint (sols acides et fortement lessivés)



2.2 Diminuer le recours aux intrants chimiques externes

La conception et l'évaluation de systèmes agricoles reposent sur la définition d'objectifs et de priorités. Lors de cette première phase, et pour ce contexte spécifique de sol acide fortement dé-saturé, la priorité était de concevoir des systèmes agricoles permettant de redresser la fertilité des sols, et de rembourser au plus vite les investissements nécessaires (Figure V.1). La priorité de la phase suivante sera de stabiliser les revenus agricoles, ce qui implique, entre autres, une stabilisation des rendements et des coûts de production. La réduction du recours aux intrants chimiques répond à ces enjeux économiques (coûts de ces intrants), mais également à des enjeux sociaux : dépendance vis-à-vis du marché, risques d'endettement, risques sanitaires et environnementaux en cas de mauvaise utilisation de ces intrants. Dans un contexte d'intensification écologique, l'augmentation et la diversification des biomasses végétales restituées au sol en itinéraire SCV apparaissent comme deux procédés prometteurs pour stabiliser les rendements et diminuer les coûts de production via une stimulation des processus biologiques au sein des agrosystèmes.

Augmenter et diversifier les biomasses restituées au sol en itinéraire SCV pour diminuer le recours aux engrais

Comme le soulignent Rasche et Cadish (2013), un des enjeux majeurs de l'innovation agronomique est de pouvoir à la fois améliorer la nutrition des plantes via une meilleure régulation du turnover des MOS, et séquestrer du carbone dans les sols pour construire et stabiliser ces MOS dans le temps. Tous ces processus (minéralisation /humification) sont régulés dans le sol par les communautés microbiennes telluriques et influencés par les pratiques agricoles. Nos résultats montrent que les systèmes SCV permettent un bon compromis entre la minéralisation (trop rapide) des matières organiques fraîches (MOF) restituées au sol et la surminéralisation des MOS liée à l'introduction de MOF (processus de *priming effect*). L'augmentation des biomasses restituées au sol en itinéraire SCV pourrait permettre d'améliorer la nutrition minérale des plantes sans augmenter le recours aux engrais minéraux via une meilleure régulation du turnover respectif des MOF et des MOS. Cette augmentation passe notamment par l'expérimentation de nouvelles modalités d'installation des plantes de couverture associées. L'implantation à la volée de ces plantes de couverture reste aléatoire et induit un développement hétérogène et parfois limité des cultures (chapitre 2)..

Encart V.1 : Principes et outils pour une gestion intégrée des adventices (IWM)

(<http://www.agf.gov.bc.ca/cropprot/weedman.htm>)

La gestion intégrée des adventices (*Integrated Weed Management, IWM*) est la « combinaison de différentes méthodes préventives et curatives visant à maintenir le développement des populations adventices sous un seuil économiquement (dommage potentiel sur le rendement des cultures) et écologiquement (risque potentiel de pollution) acceptable pour l'utilisateur et l'environnement ».

□ **Méthodes préventives**

- Gestion des stocks semenciers : contrôle des adventices avant fructification, entretien des bordures et des diguettes
- Limitation de la dissémination des semences : tri et sélection des semences, nettoyage des outils agricoles
- Prévenir le développement des adventices (stratégies culturales) :
 - Pratique de rotations culturales et/ou d'associations culturales
 - Utilisation de plantes de couverture
 - Paillage
 - Ajustement des périodes, des méthodes et des densités de semis
 - Utilisation de géotypes compétitifs
 - Ajustement des quantités et des modalités d'apports des engrais minéraux
 - etc.

□ **Méthodes curatives**

- Contrôle mécanique : travail du sol, sarclage manuel, fauche, roulage des adventices
- Contrôle biologique : pâturage, feux
- Contrôle chimique : diversification des molécules herbicides pour limiter les résistances

De nouvelles modalités d'installation de ces couverts sont à explorer : semis mécanisé durant la phase de tallage du riz (Boulakia et al., 2008), semis manuel à l'aide d'une roue semeuse, pelletisation des semences etc.

La diversification des biomasses produites et restituées, et notamment l'augmentation du nombre de légumineuses utilisées dans la rotation culturale, apparaît également importante pour maintenir l'offre en azote pour les cultures céréalières tout en diminuant progressivement le recours aux engrais chimiques azotés. L'offre en légumineuses serait à élargir (en testant notamment des légumineuses telles que *Vicia villosa*, *Vicia faba*, *Lathyrus sativus* L. etc.), et à évaluer en couplant analyse agronomique (productivité, intégration possible dans la séquence culturale) et économique (filères de valorisation).

Augmenter et diversifier les biomasses restituées à la surface du sol pour diminuer le recours aux herbicides

La pratique de rotations culturales, l'utilisation de plantes de couverture et le paillage des sols sont des éléments reconnus dans les stratégies de gestion intégrée des adventices (encart V.1). L'augmentation et la diversification des espèces cultivées et des biomasses restituées au sol doivent permettre de diminuer le recours aux herbicides. La sélection des plantes de couverture associées devra être orientée vers des espèces (annuelles ou pluriannuelles) sensibles au contrôle mécanique (utilisation accrue des rouleaux à lames pour le contrôle des couverts). L'utilisation de solutions salines (Séguy, 2010) doit également permettre de diminuer le recours aux herbicides.

2.3 Investir dans les indicateurs microbiens en milieu tropical

Du fait de leur grande sensibilité et réactivité, les indicateurs microbiens sont de plus en plus utilisés pour évaluer l'impact des modes d'usage agricoles sur la qualité des sols (Nannipieri et al., 2003 ; Huang et al., 2013). Après seulement trois années de conversion de ces pâturages naturels en terres agricoles, nos travaux confirment que les techniques moléculaires de quantification (qADN), d'amplification (qPCR), de génotypage (ARISA) et de séquençage (pyroséquençage) de l'ADN microbien sont des outils sensibles et robustes qui permettent de caractériser et quantifier l'impact des modes d'usage sur les propriétés microbiologiques des sols (biomasse totale, abondance et diversité des communautés bactériennes et fongiques). Après cette première étude de cas, il serait intéressant de tester la généralité de ces outils dans d'autres contextes biophysiques et agricoles. Ces études seraient particulièrement souhaitables pour les zones tropicales humides qui sont pour l'essentiel des milieux fragiles, rapidement dégradables si les modes de culture sont inadaptés (Dabin, 1984). Un projet de recherche combinant la diversité des dispositifs expérimentaux du CIRAD et de ses partenaires en zones tropicales, et les moyens techniques et analytiques (plateforme GenoSol) de l'INRA permettrait de renseigner à la fois la recherche (effet des pratiques sur les propriétés biologiques des sols) et le développement (les résultats pouvant contribuer à influencer les politiques locales d'appui au développement agricole). En parallèle, les instituts impliqués dans les dispositifs de recherche en partenariat au Sud (INRA, IRD, CIRAD...), devraient réfléchir au transfert technologique de ces outils et expertises. Le développement de capacités d'analyse et d'expertises locales permettrait de répondre à une demande croissante (consommateurs, décideurs politiques, praticiens) pour des outils permettant d'évaluer l'impact des modes d'usage (agricoles, industriels) sur l'environnement (sol, air et eau).

Grace au niveau de précision permis par le pyroséquençage (approche taxonomique des communautés bactériennes et fongiques), nous avons pu mettre en évidence des liens entre les pratiques culturales, la diversité microbienne et les dynamiques du carbone dans le sol. Nous avons traduit ces liens par un indicateur, basé sur la diversité relative des communautés bactérienne et fongique des sols (ratio diversité bactérienne sur diversité fongique), qui permet de renseigner sur l'état écologique (indicateur d'un niveau de stress) et le fonctionnement biologique (tendance trophique des communautés microbiennes présentes) des communautés microbiennes des sols. Ces résultats sont à confirmer dans l'espace et dans le temps mais ils ouvrent néanmoins

des perspectives prometteuses tant sur le plan de l'ingénierie des systèmes (possibilité de gérer le carbone organique des sols par les pratiques culturales et la diversité microbienne) que sur celui de l'évaluation environnementale des modes d'usage (indicateur d'état et de fonctionnement biologique des sols).

Ces résultats obtenus sur les liens entre la diversité microbienne et le turnover du carbone des sols ouvrent par ailleurs des pistes de recherche prometteuses pour d'autres fonctions et services régulés par les microorganismes du sol : existe-t-il par exemple des liens similaires entre diversité microbienne et dynamique du Phosphore dans les sols, la disponibilité de ce dernier étant un élément primordial pour améliorer la productivité des sols acides des zones tropicales (Fageria et al., 2008) ? la diversité taxonomique des communautés microbiennes telluriques joue-t-elle également un rôle dans la régulation de l'état sanitaire des sols et les processus de biorémediation ? Impacte-t-elle également la qualité (sanitaire, gustative et nutritionnelle) des produits consommés ? etc.

Références bibliographiques

- Abrol, I.P., Gupta, R.K., and Malik, R.K. (2005) *Conservation Agriculture: –Status and Prospects*. New Delhi: Centre for Advancement of Sustainable Agriculture (CASA).
- Acosta-Martinez, V., Dowd, S., Sun, Y., Allen, V. (2008) Tag-encoded pyrosequencing analysis of bacterial diversity in a single soil type as affected by management and land use. *Soil Biology & Biochemistry* 40 (11): 2762-2770.
- Altieri, M.A. (1995) *Agroecology: the science of sustainable agriculture*. Westview Press, Boulder.
- Andersen, A.N., Cook, G.D., Corbett, L.K., Douglas, M.M., Eager, R.W., Russell-Smith, J., Setterfield, S.A., Williams, R.J., Woinarski, J.C.Z. (2005) Fire frequency and biodiversity conservation in Australian tropical savannas: implications from the Kapalga fire experiment. *Austral Ecology*, 30, 155-167.
- Andrews, S. S., & Carroll, C. R. (2001) Designing a soil quality assessment tool for sustainable agroecosystem management. *Ecological Applications*, 11(6), 1573-1585.
- Baize, D. (2000) *Guide des analyses en pédologie*. Paris: INRA.
- Baker, J.M., Ochsner, T.E., Venterea, R.T., Griffis, T.J., (2007) Tillage and soil carbon sequestration - What do we really know? *Agriculture Ecosystems & Environment* 118, 1-5.
- Baker, S.L. (2000) *Perils of the Internal Rate of Return* [online]. Available from: <http://hsmp.sph.sc.edu/COURSES/ECON/invest/invest.html> [Accessed 20 April 2013]
- Balesdent, J., Chenu, C., Balabane, M. (2000) Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. *Soil & Tillage Research* 53 (3-4), 215-230.
- Barnes, R.J., Dhanoa, M.S., Lister, S.J. (1989) Standard normal variate transformation and detrending of near-infrared diffuse reflectance spectra. *Applied Spectroscopy* 43, 772-777.
- Bartlett, A. (2012) *Trends in the agriculture and natural resource management sectors of the Lao PDR*. Vientiane: SDC.
- Bernard, L, Mougel, C, Maron, P-A, Nowak, V, Leveque, J, Henault, C, Haichar, FeZ, Berge, O, Marol, C, Balesdent, J, Gibiat, F, Lemanceau, P, Ranjard, L (2007) Dynamics and identification of soil microbial populations actively assimilating carbon from C-13-labelled wheat residue as estimated by DNA- and RNA-SIP techniques. *Environmental Microbiology* 9 (3): 752-764.
- Blanchard, E. (2011) *Intensification des processus écologiques en agriculture. Séminaire du 4 octobre 2011*. Agropolis, Montpellier.
- Blanco-Canqui, H. and Lal, R., (2009) Crop residues removal impacts on soil productivity and environmental quality. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 28, 139-163.
- Bolliger, A., Magid, J., Amado, T. J., Neto, F. S., Ribeiro, M. F., Calegari, A., Ralisch, R., and De Neergaard, A., (2006) Taking Stock of the Brazilian "Zero-Till Revolution": A Review of Landmark Research and Farmers' Practice. *Advances in Agronomy*, 91, 47–110.
- Bonny, S. (2011) L'agriculture écologiquement intensive: nature et défis. *Cahiers Agricultures*, 20(6), 451-462.

- Borras Jr, S.M., Hall, R., Scoones, I., White, B., Wolford, W. (2011) Towards a better understanding of global land grabbing: an editorial introduction. *The Journal of Peasant Studies* 38, 209-216.
- Bossuyt H, Deneff K, Six J, Frey SD, Merckx R, Paustian K (2001) Influence of microbial populations and residue quality on aggregate stability. *Applied Soil Ecology*, 16, 195-208.
- Boulakia, S., Kou, P., San, S., Leng, V. and Chhit, K., (2008) Five years of adaptive research for upland DMC-based cropping systems creation in Cambodia. In: M. Chanphengxay et al.(eds). *Proceedings of the Regional Workshop on Investing in Sustainable Agriculture: The case of Conservation Agriculture and Direct Seeding Mulch-Based Cropping Systems*. Vientiane, Laos: Ministry of Agriculture and Forestry, 37-49.
- Bressan, M, Mougel, C, Dequiedt, S, Maron, P-A, Lemanceau, P, Ranjard, L (2008) Response of soil bacterial community structure to successive perturbations of different types and intensities. *Environmental Microbiology* 10 (8): 2184-2187.
- Buckley DH, Schmidt TM (2001) The structure of microbial communities in soil and the lasting impact of cultivation. *Microbial Ecology* 42: 11-21
- Buee, M, Reich, M, Murat, C, Morin, E, Nilsson, RH, Uroz, S, Martin, F (2009) 454 Pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpectedly high fungal diversity. *New Phytologist* 184 (2): 449-456.
- Bullock, JM, Aronson, J, Newton, AC, Pywell, RF, Rey-Benayas, JM. (2011) Restoration of ecosystem services and biodiversity: conflicts and opportunities. *Trends in Ecology & Evolution* 26(10): 541-549.
- Bunemann, EK, Schwenke, GD, Van Zwieten, L (2006) Impact of agricultural inputs on soil organisms - a review. *Australian Journal of Soil Research* 44 (4): 379-406.
- Cassman, K. G. (1999) Ecological intensification of cereal production systems: Yield potential, soil quality, and precision agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(11), 5952-5959.
- Castella J.C., Bourgoin J., Cottet L., Drouillat M., Nanthavong K., Phatsalin S., Lestrelin G., Bouahom B., Thepphavanh M. (2013) Handbook on Participatory Land Use Planning. Methods and tools developed and tested in Viengkham District, Luang Prabang Province. NAFRI-IRD-CIFOR, Vientiane, Lao PDR. http://www.asia-uplands.org/Catch-Up/pdf/12CA_B1_en.pdf
- Castella, J. C., & Erout, A. (2002) Montane paddy rice: The cornerstone of agricultural production systems in Bac Kan Province, Vietnam. *Doi Moi in the Mountains: Land Use Changes and Farmers' Livelihood Strategies in Bac Kan Province, Vietnam*. Ha Noi, Vietnam: The Agricultural Publishing House.
- Castro Filho C, Lourenço A, Guimarães MF, Fonseca ICB (2002) Aggregate stability under different management systems in a red Latosol in the State of Paraná, Brasil. *Soil Tillage Research* 65: 45–51.
- Cecillon, L., Cassagne, N., Czarnes, S., Gros, R., Brun, J.-J., (2008) Variable selection in near infrared spectra for the biological characterization of soil and earthworm casts. *Soil Biology & Biochemistry* 40, 1975-1979.

- Chabierski, S., Tyneth, L., Rada, K., Sona, S., Penot, E., and Boulakia, S., (2011) First Impacts of DMC Adoption among Smallholders in Cambodia [online]. Second International Conservation Agriculture Workshop and Conference in Southeast Asia. http://www.cansea.org.vn/Upload/Chabierski_First%20impact%20of%20DMC%20among%20smallholders%20in%20Cambodia.pdf [Accessed 4 September 2012]
- Chang CW, Laird DA, Mausbach MJ, Hurburgh CR (2001) Near-infrared reflectance spectroscopy-principal components regression analyses of soil properties. *Soil Science Society of America Journal* 65:480-490
- Chazée, L. (1999) *Évolution des systèmes de production ruraux en République Démocratique Populaire du Laos 1975-1995*. Paris : Harmattan.
- Chemidlin Prevost-Boure N, Christen R, Dequiedt S, Mougel C, Lelievre M, Jolivet C, Shahbazkia HR, Guillou L, Arrouays D, Ranjard L (2011) Validation and application of a PCR primer set to quantify fungal communities in the soil environment by real-time quantitative PCR. *PLoS one* 6: e24166
- CIRAD-GRET (2002) *Mémento de l'agronome*. Paris, FR: Editions Quae. N° ISBN : 2-87614-522-7.
- Cleveland CC, Nemergut DR, Schmidt SK, Townsend AR (2007) Increases in soil respiration following labile carbon additions linked to rapid shifts in soil microbial community composition. *Biogeochemistry* 82: 229-240.
- Commission de terminologie (1993) Arrêté du 20 septembre 1993 relatif à la terminologie de l'agriculture. *Journal Officiel* 256: 15265.
- Corbeels, M., Scopel, E., Cardoso, A., Bernoux, M., Douzet, J.M., Neto, M.S. (2006) Soil carbon storage potential of direct seeding mulch-based cropping systems in the Cerrados of Brazil. *Global Change Biology*, 12, 1773–1787.
- Cozzolino, D., Moron, A. (2003) The potential of near-infrared reflectance spectroscopy to analyse soil chemical and physical characteristics. *Journal of Agricultural Science* 140: 65-71.
- Craswell, E.T, and Lefroy, R.D.B. (2001) The role and function of organic matter in tropical soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 61 (1-2): 7-18.
- Dabin, B. (1984) *Les sols acides tropicaux*. Cahiers ORSTOM, série Pédologie, 21, 7-19.
- Dawes J, and Gromadzki, T.Z., (2005) Bugs beneath the surface: the functional significance of soil macroinvertebrates to landscape health in Australia's tropical savannas. *Insect Science* 12, 307-312.
- De Boer, W., Folman, L.B., Summerbell, R.C., Boddy, L. (2005) Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS Microbiology Reviews* 29: 795-811.
- De Schutter, O. (2011) Agroécologie et droit à l'alimentation. Rapport présenté à la 16e session du Conseil des droits de l'homme de l'ONU [A/HRC/16/49]. Genève, 8 mars 2011. http://www.srfood.org/images/stories/pdf/officialreports/20110308_a-hrc-16-49_agroecology_fr.pdf
- Deininger, K. W., & Byerlee, D. (2011) Rising global interest in farmland: can it yield sustainable and equitable benefits? World Bank Publications.

- Dequiedt S, Saby NPA, Lelievre M, Jolivet C, Thioulouse J, Toutain B, Arrouays D, Bispo A, Lemanceau P, Ranjard L (2011) Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management. *Global Ecology Biogeography* 20: 641-652.
- Derksen, D. A., Anderson, R. L., Blackshaw, R. E., & Maxwell, B. (2002) Weed dynamics and management strategies for cropping systems in the northern Great Plains. *Agronomy Journal*, 94(2), 174-185.
- Derpsch, R. (2005) The extent of conservation agriculture adoption worldwide: implications and impact. In *Proceedings of the Third World Congress on Conservation Agriculture: Linking Production, Livelihoods and Conservation*. Nairobi, Kenya, 3–7 October 2005.
- Derpsch, R., Friedrich, T., Kassam, A., Hongwen, L. (2010) Current status of adoption of no-till farming in the world and some of its main benefits. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 3(1), 1-25.
- Dick RP (1992) A review: long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. *Agriculture Ecosystem & Environment* 40: 25-36.
- Dixon, J. (2003) Economics of Conservation Agriculture: A global review of the profitability, risks and dynamics from the farmers' perspective. Second World Congress on Conservation Agriculture, Iguaçú, Brazil. Available from: john.dixon@fao.org
- Doran, J. W., & Parkin, T. B. (1996) Quantitative indicators of soil quality: a minimum data set. Methods for assessing soil quality, (*methodsforasses*), 25-37.
- Doré, T., Le Bail, M., Martin, P., Ney, B., & Roger-Estrade, J. (2006) *Agronomie aujourd'hui (I)*. Quae éditions.
- Doré, T., Makowski, D., Malézieux, E., Munier-Jolain, N., Tchamitchian, M., & Tiftonell, P. (2011) Facing up to the paradigm of ecological intensification in agronomy: revisiting methods, concepts and knowledge. *European Journal of Agronomy*, 34(4), 197-210.
- Erenstein, O. (2003) Smallholder conservation farming in the tropics and sub-tropics: a guide to the development and dissemination of mulching with crop residues and cover crops. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 100 (1), 17–37.
- Fageria, N.K. and Baligar, V.C. (2008) Ameliorating soil acidity of tropical oxisols by liming for sustainable crop production. *Advances in Agronomy*, 99, 345-399.
- Fierer, N, Bradford, MA, Jackson, RB (2007) Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology* 88 (6): 1354-1364.
- Fontaine, S, Mariotti, A, Abbadie, L (2003) The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biology & Biochemistry* 35 (6): 837-843.
- Food and Agriculture Organisation (FAO) (2006) World agriculture: towards 2030/2050 Prospects for food, nutrition, agriculture and major commodity groups. Interim report. Rome: FAO.
- Food and Agriculture Organisation (FAO) (2007) Agriculture and Consumer Protection Department, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, website: <http://www.fao.org/ag/ca/> (accessed on 15 June 2009).

- Food and Agriculture Organisation (FAO) (2009a) Glossaire de l'agriculture biologique. Rome: FAO
- Food and Agriculture Organisation (FAO) (2009b) Food security and agricultural mitigation in developing countries: options for capturing synergies. Rome, Italy.
- Food and Agriculture Organisation (FAO) (2011) L'état des ressources en terres et en eau pour l'alimentation et l'agriculture dans le monde. Gérer les systèmes en danger. Rome: FAO.
- Frey, S.D., Elliott, E.T., Paustian, K. (1999) Bacterial and fungal abundance and biomass in conventional and no-tillage agroecosystems along two climatic gradients. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 573-585.
- Fuentes, M., Hidalgo, C., Gonzalez-Martin, I., Hernandez-Hierro, J.M., Govaerts, B., Sayre, K.D., Etchevers, J. (2012) NIR Spectroscopy: An Alternative for Soil Analysis. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 43, 346-356.
- Garrity, D. P. (2011) Making Conservation Agriculture ever green. Rome: FAO.
- Garrity, D.P. (1996) Conservation tillage: Southeast Asian perspective [online]. ICRAF, Conservation Tillage Workshop, Los Banos, Philippines, November 11-12, 1996. http://www.worldagroforestry.org/sea/vn/publication?do=view_pub_detail&pub_no=PP0036-04 [Accessed 4 September 2012]
- Genot, V., Colinet, G., Bock, L., Vanvyve, D., Reusen, Y., Dardenne, P. (2011) Near infrared reflectance spectroscopy for estimating soil characteristics valuable in the diagnosis of soil fertility. *Journal of near Infrared Spectroscopy* 19:117-138
- Gibson, T. (1997) The Plain of Jars: an example of phosphorus deficiency for forages and livestock. *SEAFRAD News*, 4, 2.
- Giller, K.E., Witter, E., McGrath, S.P. (1998) Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 1389-1414.
- Girardin, P., and Bockstaller, C. (1998) Les indicateurs agro-écologiques, outils pour évaluer des systèmes de culture. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 4(6), 418-26.
- Gleason, FH, Letcher, PM, McGee, PA (2004) Some Chytridiomycota in soil recover from drying and high temperatures. *Mycological Research* 108: 583-589.
- GoL (Government of Lao PDR) (2004) *The National Growth and Poverty Eradication Strategy*. Ministry of Foreign Affairs, Vientiane, Lao PDR.
- GoL (Government of Lao PDR) (2010) Prime Minister's Decree No. 136 on Cooperative.
- Govaerts, B, Mezzalama, M, Unno, Y, Sayre, KD, Luna-Guido, M, Vanherck, K, Dendooven, L, Deckers, J (2007) Influence of tillage, residue management, and crop rotation on soil microbial biomass and catabolic diversity. *Applied Soil Ecology* 37: 18-30.
- Gras, R., Benoit, M., Deffontaines, J.P., Duru, M., Lafarge, M., Langlet, A., Osty, P.L. (1989) Chapitre 4: les méthodes (87-106). Paris : INRA – Editions L'Harmattan. Collection alternatives rurales.
- Grayston, S.J., Campbell, C.D., Bardgett, R.D., Mawdsley, J.L., Clegg, C.D., Ritz, K., Griffiths, B.S., Rodwell, J.S., Edwards, S.J., Davies, W.J., Elston, D.J., Millard, P. (2004) Assessing

shifts in microbial community structure across a range of grasslands of differing management intensity using CLPP, PLFA and community DNA techniques. *Applied Soil Ecology* 25: 63-84.

Griffon, M. (2010) *Pour des agricultures écologiquement intensives*. La Tour d'Aigues : éditions de l'Aube.

Griffon, M., & Weber, J. (1996) La révolution doublement verte: économie et institutions. *Cahiers Agricultures*, 5(4), 239-242.

Guenet, B, Leloup, J, Raynaud, X, Bardoux, G, Abbadie, L (2010) Negative priming effect on mineralization in a soil free of vegetation for 80 years. *European Journal of Soil Science* 61 (3): 384-391.

Guérif, J. (1994) Influence de la simplification du travail du sol sur l'état structural des horizons de surface. Conséquences sur leurs propriétés physiques et leurs comportements mécaniques, p. 13-33, In G. Monnier, et al., eds. Simplification du travail du sol, INRA (Les Colloques N° 65) ed, Paris.

Hacker, J.B., Phimphachanhvongsod, V., Novaha, S., Kordnavong, P., Veldkamp, J., and Simon, B.K. (1998) A guide to the grasses of Xieng Khouang Province, Lao PDR and some notes on ecology of grazing lands in the province. *Genetic Resources Communication* N°28. CSIRO Tropical Agriculture.

Hazelton, P. A., & Murphy, B. W. (2007) *Interpreting Soil Test Results: What do all the numbers mean?*. CSIRO publishing.

Hede, A. R., Skovmand, B., & Lopez-Cesati, J. (2001) Acid soils and aluminum toxicity. Application of physiology in wheat breeding. CIMMYT, Mexico, 172-182.

Hénin, S., & Dupuis, M. (1945) Essai de bilan de la matière organique du sol. *Annales agronomiques*, 15, 17-29.

Hobbs, P.R. (2007) Conservation agriculture: what is it and why is it important for future sustainable food production? *Journal of Agricultural Science*, 145, 127-137.

Horne, P.M. and Stur, W.W. (1999) Developing forage technologies with smallholder farmers - how to select the best varieties to offer farmers in Southeast Asia. ACIAR Monograph No. 62.

Huang, M, Jiang, L, Zou, Y, Xu, S, Deng, G. (2013) Changes in soil microbial properties with no-tillage in Chinese cropping systems. *Biology and Fertility of Soils* 49 (4): 373-377.

Huehn, M. (1993) Comparison of Harvest Index and Grain/Straw-Ratio with Applications to Winter Oilseed Rape. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 170(4), 270-280.

Husson O., Chabanne A., Ha Dinh Tuan, Lecomte P., Martin C., Castella J.C., Tivet F. and Séguy L. (2003) Integrating crops and livestock through direct seeding on vegetal cover in Vietnam. Second World Congress on Conservation Agriculture, Brazil, Iguassu, 11-15 August, 2003. pp. 357-367.

Husson, O., Bouzinac, S., Michellon, R., Boulakia, S., Chabanne, A., Tivet, F., Chabierski, S., Lienhard, P., Enjalric, F., Rakotondramanana, Tran Quoc, H., Kou, P., Séguy, L. (in press). Co-design of innovative rice-based cropping systems matching biophysical and socio-economic diversity. The DATE approach in Brazil, Cambodia and Madagascar. *Cahiers Agricultures*.

- International Atomic Energy Agency (IAEA) (2000) Management and conservation of tropical acid soils for sustainable crop production. Vienna: IAEA-TECDOC-1159.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) (2007) Fourth assessment report: climate change 2007. Switzerland, Geneva.
- Islam, K, Singh, B, McBratney, A (2003) Simultaneous estimation of several soil properties by ultra-violet, visible, and near-infrared reflectance spectroscopy. *Australian journal of Soil Research* 41:1101-1114
- Jamin, J.Y., Gounel, C., Bois, C., Namkosséréna, S., & SeinyèBoukar, L. (2003) Atlas "Agriculture et développement rural des savanes d'Afrique centrale: Cameroun, République centrafricaine, Tchad". Montpellier, FR : CIRAD.
- Jat, R.A., Wani, S. P., and Sahrawat, K. L., 2012. Conservation agriculture in the semi-arid tropics: prospects and problems. *Advances in Agronomy*, 117, 191–273.
- Jenkins, SN, Rushton, SP, Lanyon, CV, Whiteley, AS, Waite, IS, Brookes, PC, Kemmitt, S, Evershed, RP, O'Donnell, AG (2010) Taxon-specific responses of soil bacteria to the addition of low level C inputs. *Soil Biology and Biochemistry* 42: 1624-1631.
- Jobard, E. (2010) Assessing the socio-economic impacts of conservation agriculture adoption in Xieng Khouang province, Lao PDR. MSc Dissertation, IRD-AgroParisTech, Vientiane.
- Johansen, C., Haque, M.E., Bell, R.W., Thierfelder, C., Esdaile, R.J. (2012) Conservation agriculture for small holder rainfed farming: Opportunities and constraints of new mechanized seeding systems. *Field Crops Research*, 132, 18-32.
- Jullien, F., Khampa, S., Rattanatray, B., Kenghe, S., Vongvichit, B., Phanlak, V., Philakoun A., and Tivet, F. (2008) Improving smallholder's income generation by the integration of DMC by-products into pig raising activities. In: M. Chanphengxay et al.. (eds). *Proceedings of the Regional Workshop on Investing in Sustainable Agriculture: The case of Conservation Agriculture and Direct Seeding Mulch-Based Cropping Systems*. Vientiane, Laos: Ministry of Agriculture and Forestry, 95-100.
- Kandeler, E. (2007) Physiological and biochemical methods for studying soil biota and their function. In: Eldor A. Paul (ed) *Soil microbiology, ecology, and biochemistry*, 3rd Edn. Academic Press, Burlington, pp 53-80.
- Kaschuk, G., Alberton, O., Hungria, M. (2010) Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: Lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. *Soil Biology and Biochemistry* 42: 1-13.
- Kassam, A., Friedrich, T., Shaxson, F., Pretty, J. (2009) The spread of Conservation Agriculture: justification, sustainability and uptake. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 7, 292-320.
- Kemper, W.D., Rosenau, R.C. (1986) Aggregate stability and size distribution. In: Klute, A. (Ed.), *Methods of Soil Analysis. Part I. Physical and Mineralogical Methods*. Agronomy Monograph No. 9. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison, WI, pp. 425–442.

- Kirkegaard, J.A., Peoples, M.B., Angus, J.F., & Unkovich, M.J. (2011) Diversity and evolution of rainfed farming systems in southern Australia. In *Rainfed Farming Systems* (pp. 715-754). Springer Netherlands.
- Kladivko, E.J. (2001) Tillage systems and soil ecology. *Soil & Tillage Research* 61: 61-76.
- Knowler, D., Bradshaw, B., (2007) Farmers' adoption of conservation agriculture: A review and synthesis of recent research. *Food Policy*, 32, 25-48.
- Köller, K. (2003) Techniques of Soil Tillage, p. 1-25, In A. El Titi, ed. *Soil Tillage in Agroecosystems*. CRC Press LLC, Boca Raton.
- Kongay, K., Phaipasith, S., Ferrand, J., and Castella, J.C. (2010) Land use change analysis in Xieng Khouang Province, Lao PDR, 1973–2010. Vientiane, Lao PDR: NAFRI-IRD.
- Kuang, B., and Mouazen, A.M. (2011) Calibration of visible and near infrared spectroscopy for soil analysis at the field scale on three European farms. *European Journal of Soil Science* 62: 629-636.
- Kuzyakov, Y. (2010) Priming effects: interactions between living and dead organic matter. *Soil Biology & Biochemistry* 42 (9): 1363-1371.
- Lal, R. (2002) Soil carbon dynamics in cropland and rangeland. *Environmental pollution*, 116(3), 353-362.
- Lal, R., (2005) World crop residues production and implications of its use as a biofuel. *Environment International*, 31, 575-584.
- Lal, R., (2008) Soils and sustainable agriculture. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 28, 57-64.
- Lal, R., Reicosky, D.C., Hanson, J.D. (2007) Evolution of the plow over 10,000 years and the rationale for no-till farming. *Soil and Tillage Research* 93:1-12.
- Landers, J.N., (2007) *Tropical Crop-Livestock Systems in Conservation Agriculture: The Brazilian Experience*. FAO, Rome, Italy.
- Lauber, CL, Hamady, M, Knight, R, Fierer, N (2009) Pyrosequencing-Based Assessment of Soil pH as a Predictor of Soil Bacterial Community Structure at the Continental Scale. *Applied and Environmental Microbiology* 75 (15): 5111-5120.
- Lavelle, P., Bignell, D., Lepage, M., Wolters, V., Roger, P., Ineson, P., Heal, O.W., Dhillon, S. (1997) Soil function in a changing world: the role of invertebrate ecosystem engineers. *European Journal of Soil Biology* 33, 159-193.
- Lefroy, R.D.B. (2000) Improving the management of infertile acid soils in Southeast Asia: the approach of the ISBRAM acid-soils network. In IAEA (ed). *Management and conservation of tropical acid soils for sustainable crop production*. Vienna: IAEA-TECDOC-1159. pp 119-130.
- Lejon, DPH, Sebastia, J, Lamy, I, Chaussod, R, Ranjard, L (2007) Relationships between soil organic status and microbial community density and genetic structure in two agricultural soils submitted to various types of organic management. *Microbial Ecology* 53: 650-663.
- Lestrelin, G., and Castella, J.C. (2011) Opportunities and challenges for the adoption of conservation agriculture in maize production areas of Laos. In *Resilient food systems for a*

- changing world. Proceedings of the 5th World Congress on Conservation Agriculture. Australia, Brisbane, 26-29 September, 2011. pp. 42-44.
- Lestrelin, G, Nanthavong, K, Jobard, E, Keophoxay, A, Lienhard, P, Khambanseauang, C, and Castella J-C (2012) "To till or not to till?" Opportunities and constraints to the diffusion of Conservation Agriculture in Xieng Khouang Province, Lao PDR. *Outlook on Agriculture*, 41, 41-49.
- Lestrelin, G., Hoa Tran, Q., Jullien, F., Rattanatray, B., Khamxaykhay, C., Tivet, F. (2012) Conservation agriculture in Laos: Diffusion and determinants for adoption of direct seeding mulch-based cropping systems in smallholder agriculture. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 27, 81-92.
- Lienhard, P., Boulakia, S., Legoupil, J.C., Gilard, O., Séguy, L. (in press). Chapter 7. Development and prospects of conservation agriculture in South East Asia: A comprehensive review. In Jat and Sahrawat (eds) Conservation Agriculture : Global prospects and challenges. CABI.
- Lienhard, P, Tivet, F, Chabanne, A, Dequiedt, S, Lelièvre, M, Sayphoummie, S, Leudphanane, B, Chemidlin Prévost-Bouré, N, Séguy, L, Maron, P-A, Ranjard, L (2013) No-till and cover crops shift soil microbial abundance and diversity in Laos tropical grasslands. *Agronomy for Sustainable Development* 33 (2): 375-384.
- Lienhard, P., Syphanravong, S., Dangé, G., Talon, M.P. and Sosomphou, T. (2006) Impact of Urban Development and Market Access on Farming Systems Evolution in Xieng Khouang Province, Lao PDR. International Symposium "Towards Sustainable Livelihoods and Ecosystems in Mountainous regions". Chiang Mai, Thailand, 7-9 March 2006.
- Lienhard, P., Tivet, F., Bounkhampone, B., Sosomphou, T., Sayphoummie, S., Phanthavivong, I., and Séguy, L. (2008) Direct Seeding Mulch-Based Cropping systems for Rice-Beef Production in the Plain of Jars, Xieng Khouang Province, Lao PDR: an Example of 'Creation-Validation' Methodological Approach. In: M. Chanphengxay et al. (eds). Proceedings of the Regional Workshop on Investing in Sustainable Agriculture: The case of Conservation Agriculture and Direct Seeding Mulch-Based Cropping Systems. Vientiane, Laos: Ministry of Agriculture and Forestry, 210-223.
- Madari, B.E., Reeves III, J.B., Coelho, M.R., Machado, P.L., De-Polli, H., Coelho, R.M., & McCarty, G.W. (2005) Mid-and Near-Infrared Spectroscopic Determination of Carbon in a Diverse Set of Soils from the Brazilian National Soil Collection. *Spectroscopy letters*, 38(6), 721-740.
- Madari, B., Machado, P.L., Torres, E., de Andrade, A.G., & Valencia, L.I. (2005) No tillage and crop rotation effects on soil aggregation and organic carbon in a Rhodic Ferralsol from southern Brazil. *Soil and Tillage Research*, 80(1), 185-200.
- Mandic-Mulec, I, Prosser, J (2011) Diversity of Endospore-forming Bacteria in Soil: Characterization and Driving Mechanisms. In Logan, NA and Vos, P, (eds) Endospore-forming Soil Bacteria, Springer Berlin Heidelberg. 27: 31-59.
- Maron, P-A, Ranjard, L., Mougél, C., & Lemanceau, P. (2007) Metaproteomics: a new approach for studying functional microbial ecology. *Microbial ecology*, 53(3), 486-493.

- Maron, P-A, Mougél, C, Ranjard, L (2010) Soil microbial diversity: Methodological strategy, spatial overview and functional interest. *Comptes Rendus Biologies* 334 (5-6): 403-411.
- Marstorp, H, Guan, X, Gong, P (2000) Relationship between dsDNA, chloroform labile C and ergosterol in soils of different organic matter contents and pH. *Soil Biology & Biochemistry* 32: 879-882.
- Martens, H, and Naes, T (1989) Multivariate calibration. John Wiley & Sons, Chichester, UK
- Martiny, JBH, Bohannan, BJM, Brown, JH, Colwell, RK, Fuhrman, JA, Green, JL, Horner-Devine, MC, Kane, M, Krumins, JA, Kuske, CR, Morin, PJ, Naeem, S, Ovreas, L, Reysenbach, AL, Smith, VH, Staley, JT (2006) Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nature Reviews Microbiology* 4: 102-112.
- Matson, PA, Parton, WJ, Power, AG, Swift, MJ. (1997) Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science* 277(5325): 504-509.
- Mazoyer, M., & Roudart, L. (2002) Histoire des agricultures du monde (No. 2013/44785). ULB-Université Libre de Bruxelles.
- McNeely, J.A., & Scherr, S.J. (2003) Ecoagriculture: strategies to feed the world and save wild biodiversity. Washington, DC : Island Press.
- Millennium Ecosystem Assessment (MEA) (2005) Ecosystems and human well-being: biodiversity synthesis. World Resources Institute. Washington, DC : Island Press.
- Metay, A. (2005) Séquestration de carbone et flux de gaz à effet de serre Comparaison entre semis direct et système conventionnel dans les Cerrados brésiliens (Doctoral dissertation, Institut national agronomique paris-grignon-INA PG).
- Millar, J., & Photakoun, V. (2008) Livestock development and poverty alleviation: Revolution or evolution for upland livelihoods in Lao PDR? *International journal of agricultural sustainability*, 6(1), 89-102.
- Mitchell, G., May, A., & McDonald, A. (1995) PICABUE: a methodological framework for the development of indicators of sustainable development. *The International Journal of Sustainable Development & World Ecology*, 2(2), 104-123.
- Montgomery, D.R. (2007) Soil erosion and agricultural sustainability, *PNAS*, 104 (33), 13268–13272.
- Moreira, C.S., Brunet, D., Verneyre, L., Sa, S.M.O., Galdos, M.V., Cerri, C.C., Bernoux, M., (2009) Near infrared spectroscopy for soil bulk density assessment. *European Journal of Soil Science* 60, 785-791.
- Mouazen, AM, De Baerdemaeker, J, Ramon, H (2006) Effect of wavelength range on the measurement accuracy of some selected soil constituents using visual-near infrared spectroscopy. *Journal of near Infrared Spectroscopy*, 14: 189-199.
- Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M.T., Landi, L., Pietramellara, G., Renella, G. (2003) Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science* 54, 655-670.
- National Aeronautics and Space Administration (NASA) (2012) EO Experiments: Grassland Biome [online]. Available from: www.earthobservatory.nasa.gov. [Accessed on 14 September 2012].

- Naudin, K. (2012) You can't eat your mulch and have it too. Cropping system design and trade-offs around biomass use for Conservation Agriculture in Cameroon and Madagascar. Thesis, Wageningen University, Wageningen, NL.
- Nemergut, DR, Costello, EK, Hamady, M, Lozupone, C, Jiang, L, Schmidt, SK, Fierer, N, Townsend, AR, Cleveland, CC, Stanish, L (2007) Global patterns in the biogeography of bacterial taxa. *Environmental Microbiology* 13(1): 135-144.
- Nicolardot, B, Bouziri, L, Bastian, F, Ranjard, L (2007) A microcosm experiment to evaluate the influence of location and quality of plant residues on residue decomposition and genetic structure of soil microbial communities. *Soil Biology & Biochemistry* 39 (7): 1631-1644.
- Nishizawa, T, Zhaorigetu, Komatsuzaki, M, Sato, Y, Kaneko, N, Ohta, H (2010) Molecular Characterization of Fungal Communities in Non-Tilled, Cover-Cropped Upland Rice Field Soils. *Microbes and Environments* 25 (3): 204-210.
- Natural Resources Conservation Service (NRCS) (1999) The Twelve Orders of Soil Taxonomy. Available at http://soils.usda.gov/technical/soil_orders/ Retrieved on 2/11/2010
- Ofek, M, Hadar, Y, Minz, D (2012) Ecology of Root Colonizing Massilia (Oxalobacteraceae). *PloS one* 7 (7).
- Ogle, S.M., Swan, A., Paustian, K. (2012) No-till management impacts on crop productivity, carbon input and soil carbon sequestration. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 149, 37-49.
- Provincial Agricultural and Forestry Office (PAFO) (2008). Agricultural statistics Year 2007. Department of statistics. Xieng Khouang Province, Laos.
- Palm, C.A., Gachengo, C.N., Delve, R.J., Cadisch, G., & Giller, K.E. (2001) Organic inputs for soil fertility management in tropical agroecosystems: application of an organic resource database. *Agriculture, ecosystems & environment*, 83(1), 27-42.
- Palm, C., Sanchez, P., Ahamed, S., & Awiti, A. (2007) Soils: a contemporary perspective. *Annual Review of Environment and Resources*, 32, 99-129.
- Pascual, N, Cecillon, L, Mathieu, O, Henault, C, Sarr, A, Leveque, J, Farcy, P, Ranjard, L, Maron, PA. (2010). In Situ Dynamics of Microbial Communities during Decomposition of Wheat, Rape, and Alfalfa Residues. *Microbial Ecology* 60(4): 816-828.
- Pascual, N, Ranjard, L, Kaisermann, A, Bachar, D, Christen, R, Terrat, S, Mathieu, O, Lévêque, J, Mougel, C, Henault, C, Lemanceau, P, Péan, M, Boiry, S, Fontaine, S, Maron, P-A (in press) Stimulation of different functional groups of bacteria by various plant residues as a driver of soil priming effect. *Ecosystems*.
- Pearcy, R.W., & Ehleringer, J. (1984) Comparative ecophysiology of C3 and C4 plants. *Plant, Cell & Environment*, 7(1), 1-13.
- Penot, E., Husson, O., Rakotondramanana (2010). Les bases de calculs économiques pour l'évaluation des systèmes SCV. Manuel pratique du semis direct à Madagascar. Annexe 2. GSDM/CIRAD.
- Philippot, L, Andersson, SGE, Battin, TJ, Prosser, JI, Schimel, JP, Whitman, WB, Hallin, S (2010) The ecological coherence of high bacterial taxonomic ranks. *Nature Reviews Microbiology* 8:523–529.

- Pirie, A, Singh, B, Islam, K (2005) Ultra-violet, visible, near-infrared, and mid-infrared diffuse reflectance spectroscopic techniques to predict several soil properties. *Australian journal of Soil Research* 43:713-721
- Pretty, J. (2008) Agricultural sustainability: concepts, principles and evidence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1491), 447-465.
- Prowse, M. (2012) Contract farming in developing countries: a review. Paris: AFD, collection A Savoir (12).
- Ranjard, L, Lejon, DPH, Mougel, C, Schehrer, L, Merdinoglu, D, Chaussod, R (2003) Sampling strategy in molecular microbial ecology: influence of soil sample size on DNA fingerprinting analysis of fungal and bacterial communities. *Environmental Microbiology* 5: 1111-1120.
- Ranjard, L, Dequiedt, S, Jolivet, C, Saby, NPA, Thioulouse, J, Harmand, J, Loisel, P, Rapaport, A, Fall, S, Simonet, P, Joffre, R, Boure, NCP, Maron, PA, Mougel, C, Martin, MP, Toutain, B, Arrouays, D, Lemanceau, P. (2010) Biogeography of soil microbial communities: a review and a description of the ongoing french national initiative. *Agronomy for Sustainable Development* 30(2): 359-365.
- Ranjard, L, Richaume, AS (2001) Quantitative and qualitative microscale distribution of bacteria in soil. *Research in Microbiology* 152 (8): 707-716.
- Rasche, F, and Cadisch, G. (2013) The molecular microbial perspective of organic matter turnover and nutrient cycling in tropical agroecosystems - What do we know? *Biology and Fertility of Soils* 49 (3): 251-262.
- Reeves III, J.B. (2010) Near –versus mid-infrared diffuse reflectance spectroscopy for soil analysis emphasizing carbon and laboratory versus on-site analysis: where are we and what needs to be done? *Geoderma*, 158, 3-14.
- Reeves, D.W. (1997) The role of soil organic matter in maintaining soil quality in continuous cropping systems. *Soil & Tillage Research* 43, 131-167.
- Roesch, LF, Fulthorpe, RR, Riva, A, Casella, G, Hadwin, AKM, Kent, AD, Daroub, SH, Camargo, FAO, Farmerie, WG, Triplett, EW (2007) Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. *Isme Journal* 1 (4): 283-290.
- Roger-Estrade, J., Richard, G., Boizard, H., Boiffin, J., Caneill, J., & Manichon, H. (2000) Modelling structural changes in tilled topsoil over time as a function of cropping systems. *European Journal of Soil Science*, 51(3), 455-474.
- Rousk, J, Baath, E, Brookes, PC, Lauber, CL, Lozupone, C, Caporaso, JG, Knight, R, Fierer, N (2010) Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *Isme Journal* 4: 1340-1351.
- Ruellan, A., & Dosso, M. (1993) *Regard sur le sol*. Paris: UREF.
- Sá, J.C.D.M., Cerri, C.C., Lal, R., Dick, W.A., de Cassia Piccolo, M., & Feigl, B.E. (2009) Soil organic carbon and fertility interactions affected by a tillage chronosequence in a Brazilian Oxisol. *Soil and Tillage Research*, 104(1), 56-64.
- Sapkota, T, Mazzoncini, M, Bàrberi, P, Antichi, D, Silvestri N (2011) Fifteen years of no till increase soil organic matter, microbial biomass and arthropod diversity in cover crop-based arable cropping systems. *Agronomy for Sustainable Development* 32(4): 853-863.

- Schuette, J. (1998) Environmental fate of glyphosate. Environmental monitoring & pest management. Sacramento, CA: Department of Pesticide Regulation.
- Séguy, L., and Bouzinac, S. (2001). Direct seeding on plant covers: sustainable cultivation of our planet's soils. In congress on conservation agriculture: a worldwide challenge (Vol. 1, pp. 85-92).
- Séguy, L, Bouzinac, S, Husson, O (2006) Direct-seeded tropical soil systems with permanent soil cover: Learning from Brazilian experience. In: N. Uphoff, A.S. Ball, E. Fernandes, H. Herren, O. Husson, M. Laing, C. Palm, J. Pretty, P. Sanchez (Eds.), Biological approach to sustainable soil systems. CRC Press, Taylor & Francis, pp. 323-342.
- Séguy, L. and Bouzinac, S. (2008) La symphonie inachevée du semis direct dans le Brésil central: Le système dominant dit de 'semi-direct'. CIRAD, Montpellier, France.
- Séguy, L. (2010) Mission d'appui scientifique et technique au projet PADAC pour la création-diffusion de scénarios d'agriculture durable (SCV) au Cambodge. CIRAD, Montpellier, France.
- Shenk, JS, Westerhaus, MO (1991) ISI NIRS-2. Software for near-infrared instruments. User manual. In. Infrasoftware International, Silverspring.
- Shepherd, KD, Walsh, MG (2002) Development of reflectance spectral libraries for characterization of soil properties. *Soil Science Society of America Journal* 66:988-998
- Six, J., Feller, C., Denef, K., Ogle, S.M., Sa, J.C.D.M, Albrecht, A. (2002) Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils - Effects of no-tillage. *Agronomy* 22(7-8), 755-775.
- Six, J, Frey, SD, Thiet, RK, Batten, KM (2006) Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. *Soil Science Society of America Journal* 70 (2): 555-569.
- Spedding, TA, Hamel, C, Mehuys, GR, Madramootoo, CA (2004) Soil microbial dynamics in maize-growing soil under different tillage and residue management systems. *Soil Biology & Biochemistry* 36: 499-512.
- Stackebrandt, E, Rainey, FA, WardRainey, NL (1997) Proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 47 (2): 479-491.
- Stenberg, B, Rossel, RAV, Mouazen, AM, Wetterlind, J (2010) Visible and near infrared spectroscopy in soil science. *Advances in Agronomy*, 107:163-215.
- Strickland, MS, and Rousk, J (2009) Considering fungal:bacterial dominance in soils - Methods, controls, and ecosystem implications. *Soil Biology & Biochemistry* 42: 1385-1395.
- Swanton, C.J., & Murphy, S.D. (1996) Weed science beyond the weeds: the role of integrated weed management (IWM) in agroecosystem health. *Weed science*, 437-445.
- Swift, M.J., Heal, O.W., & Anderson, J.M. (1979) Decomposition in terrestrial ecosystems (Vol. 5). University of California Press.
- Teasdale, J.R., Coffman, C.B., Mangum, R.W., (2007) Potential long-term benefits of no-tillage and organic cropping systems for grain production and soil improvement. *Agronomy Journal* 99, 1297-1305.

- Terrat, S, Christen, R, Dequiedt, S, Lelievre, M, Nowak, V, Regnier, T, Bachar, D, Plassart, P, Wincker, P, Jolivet, C, Bispo, A, Lemanceau, P, Maron, P-A, Mougel, C, Ranjard, L (2011) Molecular biomass and MetaTaxogenomic assessment of soil microbial communities as influenced by soil DNA extraction procedure. *Microbial biotechnology* 5 (1): 135-141.
- Thioulouse, J, Chessel, D, Dolédec, S, Olivier, JM (1997) Ade-4: a multivariate analysis and graphical display software. *Statistics and Computing* 7: 75–83.
- Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Naylor, R. and Polasky, S (2002) Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418 (6898), 671–677.
- Tivet, F, de Moraes Saj, JC, Lal, R, Briedis, C, Borszowski, PR, dos Santos, JB, Farias, A, Eurich, G, Hartman, DdC, Nadolny Junior, M (2013) Aggregate C depletion by plowing and its restoration by diverse biomass-C inputs under no-till in sub-tropical and tropical regions of Brazil. *Soil and Tillage Research* 126: 203-218.
- Torsvik, V, Ovreas, L. (2002) Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Current Opinion in Microbiology* 5 (3): 240-245.
- Tripathi, BM, Kim, M, Singh, D, Lee-Cruz, L, Lai-Hoe, A, Ainuddin, AN, Go, R, Rahim, RA, Husni, MHA, Chun, J, Adams, JM (2012) Tropical Soil Bacterial Communities in Malaysia: pH Dominates in the Equatorial Tropics Too. *Microbial Ecology* 64 (2): 474-484.
- Triplett, G.B., and Dick, W.A. (2008) No-Tillage Crop Production: A Revolution in Agriculture. *Agronomy Journal*, 100, 153-165.
- Valbuena, D., Erenstein, O., Homann, S., Abdoulaye, T., Claessens, L., Duncan, A.J., Gérard, B., Rufino, M.C., Teufel, N., Rooyen, A. van and Wijk, M.T. (2012) Conservation agriculture in mixed crop–livestock systems: Scoping crop residue trade-offs in sub-Saharan Africa and South Asia. *Field Crops Research*, 132, 175–184.
- Velasquez, E, Lavelle, P, Barrios, E, Joffre, R, Reversat, F (2005) Evaluating soil quality in tropical agroecosystems of Colombia using NIRS. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 889-898
- Vian, J.F. (2009) Comparaison de différentes techniques de travail du sol en agriculture biologique : effet de la structure et de la localisation des résidus sur les microorganismes du sol et leurs activités de minéralisation du carbone et de l'azote. Doctoral dissertation. AgroParistech, France.
- Wampfler, B., Penot, E., & Oustry, M. (2010) Financer l'innovation en Agriculture familiale. Le cas des cultures en semis direct sous couverture végétale (SCV) à Madagascar. Montpellier, FR : ISDA 2010.
- Wenzl, P, Patino, GM, Chaves, AL, Mayer, JE, Rao, IM (2001) The High Level of Aluminum Resistance in Signalgrass Is Not Associated with Known Mechanisms of External Aluminum Detoxification in Root Apices. *Plant Physiology* 125 (3): 1473-1484.
- West, T.O., & Post, W.M. (2002). Soil organic carbon sequestration rates by tillage and crop rotation. *Soil Science Society of America Journal*, 66(6), 1930-1946.
- Wezel, A, Bellon, S, Doré, T, Francis, C, Vallod, D, David, C, (2009) Agroecology as a science, a movement and a practice. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 29: 503-515.
- Williams, P., & Norris, K. (1987) Near-infrared technology in the agricultural and food industries. American Association of Cereal Chemists, Inc.

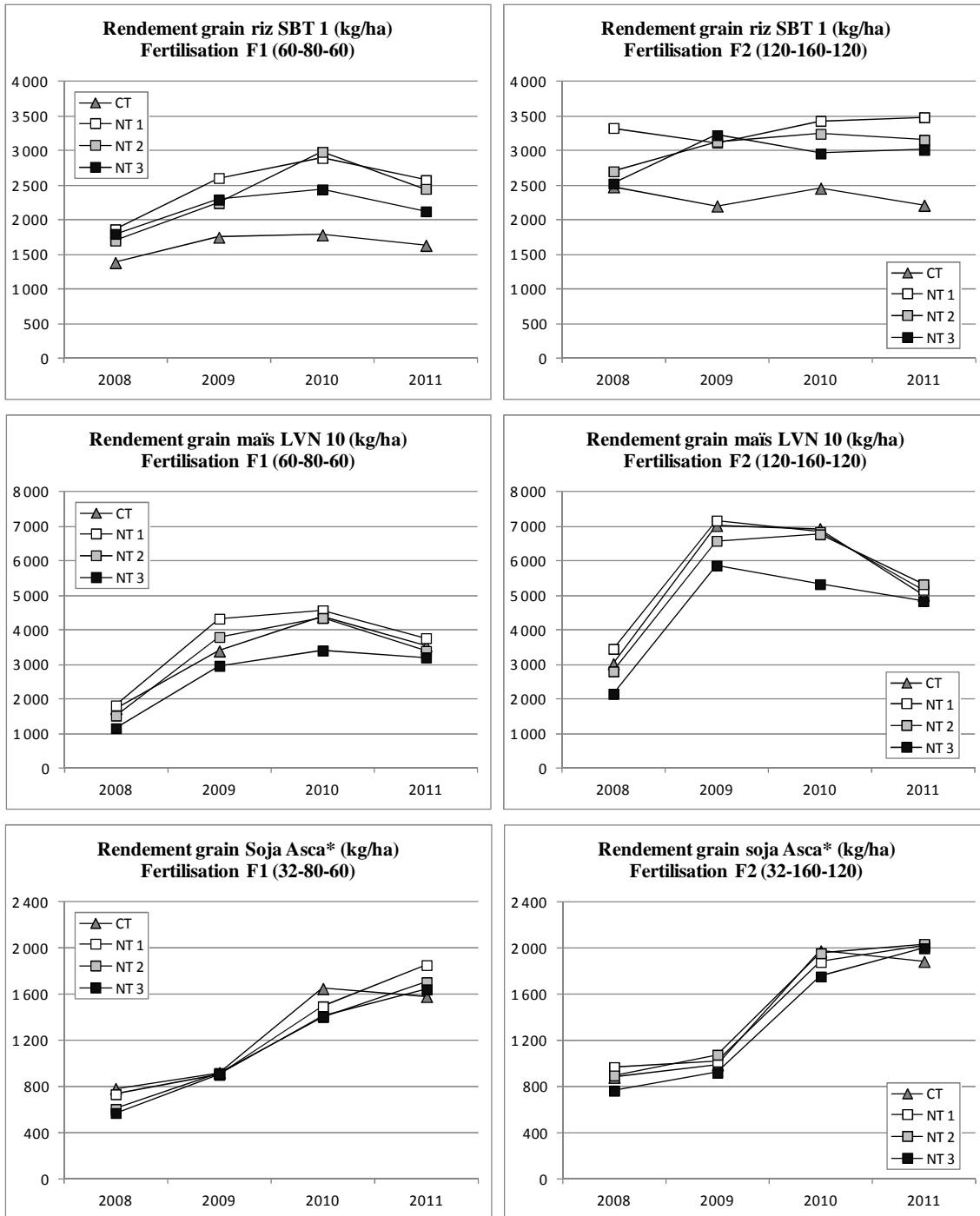
- Yu, Z, Wang, G, Jin, J, Liu, J, Liu, X (2011) Soil microbial communities are affected more by land use than seasonal variation in restored grassland and cultivated Mollisols in Northeast China. *European Journal of Soil Biology* 47 (6): 357-363.
- Zak, D.R., Holmes, W.E., White, D.C., Peacock, A.D., Tilman, D. (2003) Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: Are there any links? *Ecology* 84, 2042-2050.
- Zancarini, A, Mougél, C, Terrat, S, Salon, C, Munier-Jolain, N (2012) Combining ecophysiological and microbial ecological approaches to study the relationship between *Medicago truncatula* genotypes and their associated rhizosphere bacterial communities. *Plant and Soil* (2012): 1-17.

Annexes

Annexe 1. Prix des intrants et extrants utilisés pour l'analyse économique (moyenne 2007-2010)

1. Intrants	Unité	Coût unitaire	Description
1.1 Prestations services			
Travail du sol	USD.ha-1	181	Disque + offset
1.2 Engrais			
Urée (46%)	USD.Mg-1	428	Marché local
Thermophosphate (16%)	USD.Mg-1	168	Importé du Vietnam
KCl (60%)	USD.Mg-1	608	Importé du Vietnam
CaCO3 (27 %)	USD.Mg-1	11	Produit localement
Borax (15%)	USD.kg-1	1,1	Importé de Thaïlande
MnSO4 (20%)	USD.kg-1	1,8	Importé de Thaïlande
ZnSO4 (20%)	USD.kg-1	1,7	Importé de Thaïlande
S (poudre, 99.5%)	USD.kg-1	1,5	Importé de Thaïlande
1.3 Semences			
Riz	USD.kg-1	0,3	Marché local
Maïs hybride	USD.kg-1	3,0	Marché local
Soja	USD.kg-1	0,8	Marché local
Eleusine c.	USD.kg-1	0,1	Autoproduit
Cajanus c.	USD.kg-1	0,3	Autoproduit
B. ruziziensis	USD.kg-1	4,0	Thaïlande et local
Styloanthès g.	USD.kg-1	4,1	Thaïlande
1.4 Herbicides			
Glyphosate (36%)	USD.L-1	6,0	Marché local
Metsulfuron (10%)	USD.g-1	0,2	Marché local
2,4 D-amine (84%)	USD.L-1	6,7	Marché local
Atrazine (80%)	USD.kg-1	6,4	Marché local
Pendiméthaline (33%)	USD.L-1	6,5	Importé de Thaïlande
Cyalofof-p-butyl (20%)	USD.L-1	30,0	Importé de Thaïlande
Fluazifop-p-butyl (15%)	USD.L-1	18,8	Importé de Thaïlande
Fomesafen (25%)	USD.L-1	19,4	Importé de Thaïlande
2. Extrants			
2.1 Grains			
Riz	USD.Mg-1	259	Marché local
Maïs	USD.Mg-1	177	Marché local
Soja	USD.Mg-1	695	Marché local
2.2 Animaux			
Bovins	USD.kg-1 vif	1,6	Marché local

Annexe 2. Rendements moyens en grain par niveau de fertilisation, année et système de culture



* le soja Asca a été remplacé en 2011 par la variété DT 12.

CT : système conventionnel labour ; NT1, 2 et 3 : Systèmes AdC/SCV 1, 2 et 3 respectivement.

Annexe 3. Traitements herbicides par année et par système

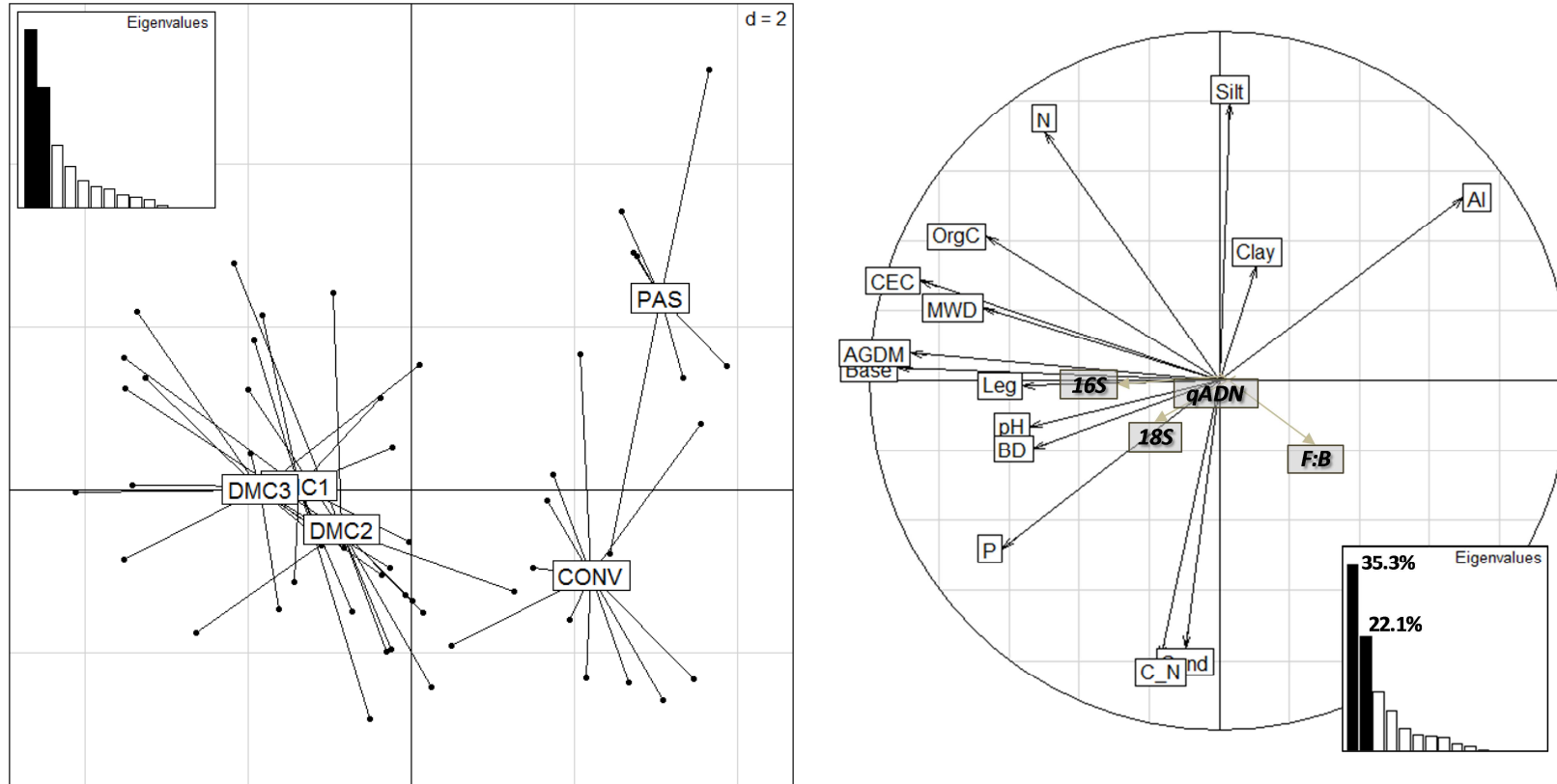
Culture	Syst.	Type et quantité (en g. de matière active.ha-1) d'herbicides utilisés			
		2008	2009	2010	2011
Riz	CT			Cyal + Met : 300+3,6 Passage disques suppl. (Nov.)	Cyal +Met : 300+3,6 Passage disques suppl. (Nov.)
	NT1	Gly + Met : 1920+3,6 Cyal + Met : 300+3,6	Gly + 2,4D : 1440+720 Oxa : 1000 Cyal + Met : 300+3,6	Gly + Met : 1440+3,6 Cyal + Met : 300+3,6	Gly + Met : 1440+3,6 Met : 3,6
	NT2	Gly + Met : 1920+3,6 Cyal + Met : 300+3,6	Gly + 2,4D : 1440+720 Oxa : 1000 Cyal + Met : 300+3,6	Gly + Met : 1440+3,6 Cyal + Met : 300+3,6	Gly + Met : 1440+3,6 Met : 3,6
	NT3	Gly + Met : 2400+3,6 Cyal: 400	Gly + 2,4D : 1920+720 Oxa : 1000 Cyal: 300	Gly + Met : 1440+3,6 Cyal + Met : 300+3,6	Gly + Met : 1440+3,6 Cyal + Met : 300+3,6
Maïs	CT		Fluor : 300	Pendi : 1500 Passage disques suppl. (Nov.)	Pendi : 1500 Passage disques suppl. (Nov.)
	NT1	Gly + Met : 1920+3,6	Gly + 2,4D : 1440+720 Fluor : 300	Gly + Met : 1440+3,6	Gly + Met : 1440+3,6
	NT2	Gly + Met : 1920+3,6	Gly + 2,4D : 1440+720	Gly + Met : 1440+3,6	Gly + Met : 1440+3,6
	NT3	Gly + Met : 2400+3,6	Gly + 2,4D : 1440+720 Atr : 1000	Gly + Met : 1440+3,6	Gly + Met : 1440+3,6
Soja	CT			Fluaz+Fom : 250+250 Passage disques suppl. (Nov.)	Fluaz+Fom : 250 + 250 Passage disques suppl. (Nov.)
	NT1	Gly + Met : 1920+3,6 Fluaz+Fom : 250+250	Gly + 2,4D : 1440+720 Pendi : 1200 Fluaz+Fom : 250+250	Gly + Met : 1440+3,6 Fom : 250	Gly + Met : 1440+3,6 Fom : 250
	NT2	Gly + Met : 1920+3,6 Fluaz+Fom : 250+250	Gly + 2,4D : 1440+720 Pendi : 1200 Fluaz+Fom : 250+250	Gly + Met : 1440+3,6 Fom : 250	Gly + Met : 1440+3,6 Fom : 250
	NT3	Gly + Met : 2400+3,6 Fluaz: 450	Gly + 2,4D : 1440+720 Pendi : 1200 Fluaz: 250	Gly + Met : 1440+3,6 Fluaz+Fom : 250+250	Gly + Met : 1440+3,6 Fluaz+Fom : 200+250

Totaux : Gly : Glyphosate ; 2,4D : 2,4 D-amine

Pré émergents : Atr : Atrazine, Pendi : Pendiméthaline, Oxa : Oxadiazon

Post émergents : Met : Metsulfuron, Cyal : Cyalofop-p-butyl, Fluaz : Fluazifop-p-butyl, Fluor : Fluoroxipyr, Fom : Fomesafen

Annexe 4. Analyse en Composantes Principales et matrice de corrélation (Spearman) réalisées sur les données physico-chimiques (site de Poa, horizon 0-10cm, sélection sols argileux, n=52, 2009) ; classification selon les modes d'usage ; les variables d'abondance microbienne (en grises) ont été rajoutées comme variables additives.



PAS : pâturage naturel (témoin), CONV : système conventionnel labour, DMC1, 2 et 3 : Systèmes SCV 1, 2 et 3 respectivement. SOC, soil organic carbon; N, total nitrogen; C_N, carbon to nitrogen ratio; P, available phosphorus; Base, sum of exchangeable bases; Al, exchangeable Aluminum; CEC, cation exchange capacity; BD, bulk density; MWD, mean weight diameter; AGDM, above ground dry matter returned to the soil; Leg, percentage of broad leaf species in Stub; qDNA, molecular microbial biomass; B16S, molecular bacterial density; F18S, molecular fungal density; F:B, fungal to bacterial ratio.

Annexe 5. Classes d'agrégats obtenues après tamisage humide selon les modes d'usage (site de Poa, horizon 0-10cm, 2009, 123 parcelles élémentaires x 3 répétitions par parcelle élémentaire)

System	Aggregate size classes						Microaggregate	Macroaggregate
	8-19 mm	4-8 mm	2-4 mm	1-2 mm	0.5-1 mm	0.25-0.5 mm	0-0.25 mm	0.25-19 mm
PAS	502 ± 41 [a]	188 ± 33 [b]	97 ± 18 [b]	69 ± 10 [b]	54 ± 14 [bc]	46 ± 26 [a]	47 ± 44 [ab]	953 ± 44 [bc]
CT	410 ± 106 [a]	152 ± 38 [a]	88 ± 25 [b]	85 ± 24 [b]	85 ± 22 [c]	86 ± 28 [b]	93 ± 38 [c]	907 ± 38 [a]
NT 1	612 ± 96 [b]	144 ± 31 [a]	60 ± 16 [a]	48 ± 20 [a]	43 ± 16 [ab]	46 ± 29 [a]	48 ± 34 [b]	952 ± 34 [b]
NT 2	608 ± 112 [b]	155 ± 48 [ab]	66 ± 23 [a]	46 ± 19 [a]	39 ± 23 [a]	38 ± 28 [a]	45 ± 26 [ab]	955 ± 26 [bc]
NT 3	627 ± 94 [b]	154 ± 41 [a]	64 ± 21 [a]	47 ± 15 [a]	40 ± 19 [ab]	34 ± 16 [a]	33 ± 19 [a]	967 ± 19 [c]

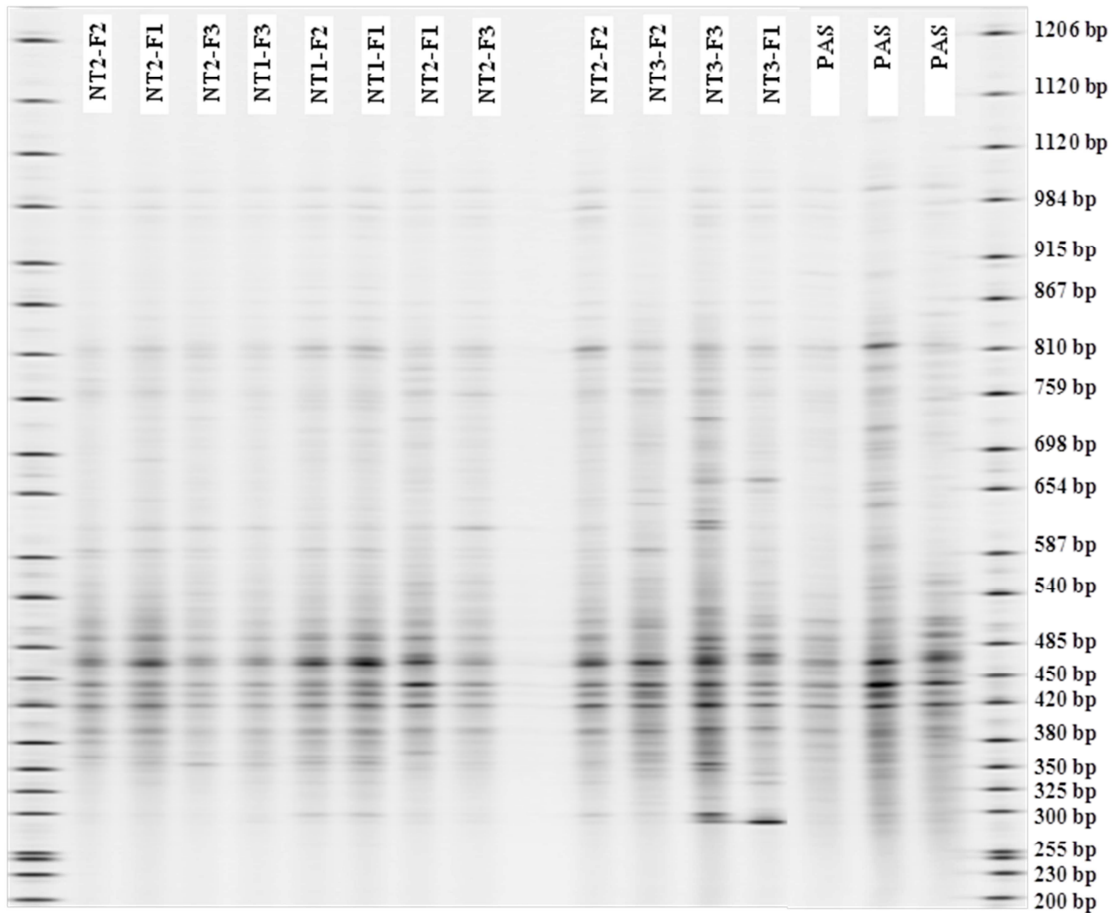
PAS : pâturage naturel (témoin, n=15),

CT : système conventionnel labour (n=27),

NT1, 2 et 3 : Systèmes AdC/SCV 1, 2 et 3 respectivement (n=27 chacun),

Les lettres entre crochets indiquent pour chaque classe d'agrégat une différence significative selon le test de Tukey (HSD) (P<0.05).

Annexe 6. Impact des modes d'usage sur la structure génétique des communautés bactériennes des sols (exemple de profils B-ARISA)



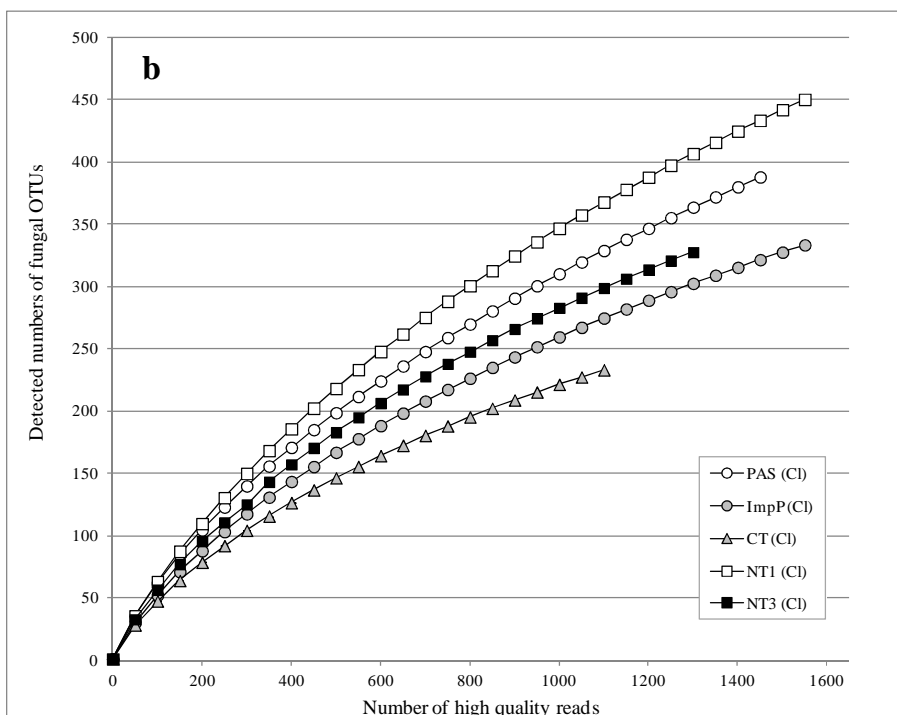
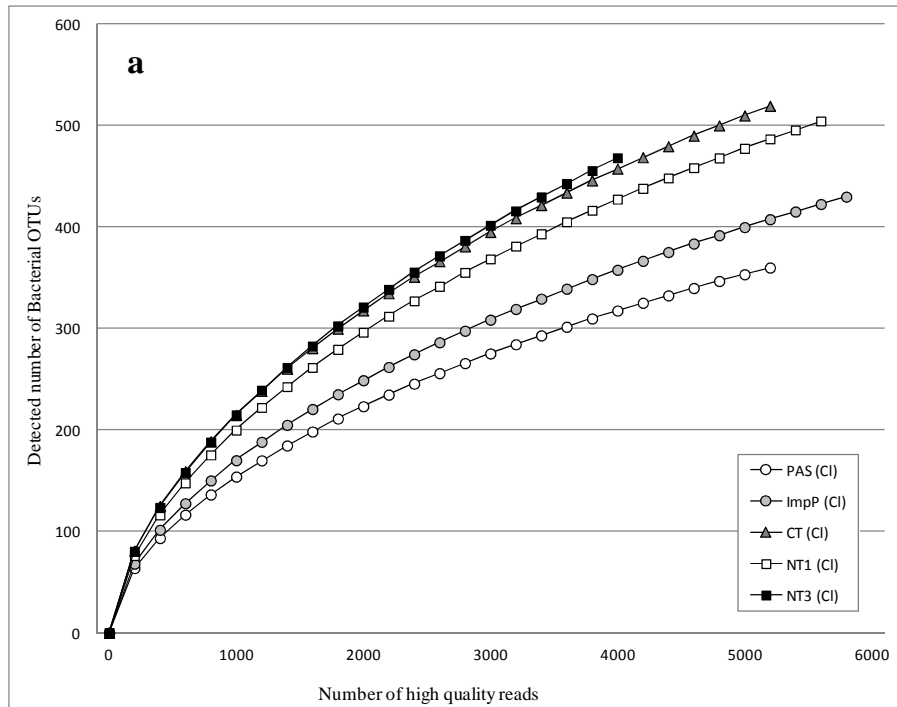
NT1, 2 et 3 : Systèmes AdC/SCV 1, 2 et 3 respectivement.

F1, 2 et 3 : Niveaux de fertilisation 1, 2 et 3 respectivement.

PAS : pâturage naturel (témoin).

bp : nombre de paire de bases des séquences d'ADNr bactérien cibles.

Annexe 7. Courbes de raréfaction de la richesse en bactéries (a) et en champignons (b) selon le nombre de séquences analysées



PAS : pâturage naturel (témoin) ; ImpP : pâturage amélioré de *B. ruziziensis*
 CT : système conventionnel labour ; NT1 et 3 : Systèmes AdC/SCV 1 et 3 respectivement.