



HAL
open science

Étude des champignons mycorhiziens arbusculaires des sols en systèmes de grandes cultures biologiques sans élevage : application à la nutrition phosphatée

Diane Rivaton

► **To cite this version:**

Diane Rivaton. Étude des champignons mycorhiziens arbusculaires des sols en systèmes de grandes cultures biologiques sans élevage : application à la nutrition phosphatée. Sciences du Vivant [q-bio]. 2016. dumas-01472700

HAL Id: dumas-01472700

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01472700>

Submitted on 21 Feb 2017

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

AGROCAMPUS OUEST

CFR Angers CFR Rennes

Année universitaire : 2015-2016

Spécialité :

Génie de l'Environnement

Spécialisation (et option éventuelle) :

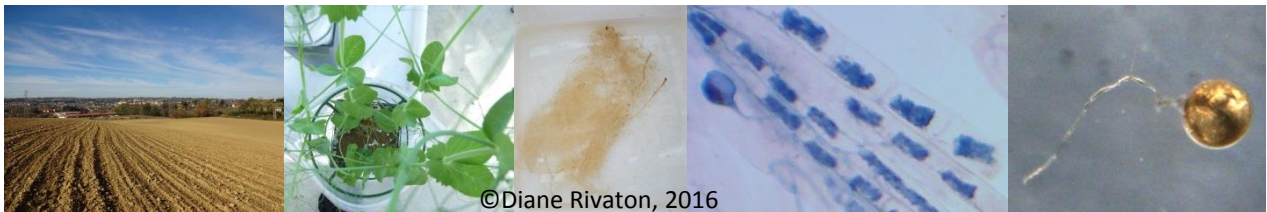
**PAM-EQ (Préservation et Aménagement
des milieux- Ecologie Quantitative)**

Mémoire de Fin d'Études

- d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage
- de Master de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage
- d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)

**Etude des champignons mycorhiziens arbusculaires
des sols en systèmes de grandes cultures
biologiques sans élevage.
Application à la nutrition phosphatée.**

Par : Diane RIVATON



©Diane Rivaton, 2016

Figure de présentation : De Gauche à droite : Champs de La Hourre, pois sous serre, racine de pois, Portion de cortex racinaire contenant des arbuscules et une vésicule de champignons mycorhizien, spore de Champignons Mycorhiziens Arbusculaires

Soutenu à RENNES le 16 Septembre 2016

Devant le jury composé de :

Président : D.LECOEUR

Jury externe : S.MENASSERI

Maître de stage : C. JOUANY

Co-encadrant : J.F. VIAN

Enseignant référent : M. PLANTEGENEST

Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur et non celle d'AGROCAMPUS OUEST

Ce document est soumis aux conditions d'utilisation

«Paternité-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de Modification 4.0 France»

disponible en ligne <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.fr>



REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier ma maîtresse de stage, Claire Jouany pour son accueil chaleureux, sa gentillesse, son encadrement assidu, et bien sûr pour ses bons gâteaux lors des pauses café ! Merci à Jean-François Vian, co-encadrant dans ce projet, qui, malgré la distance kilométrique n'a pas hésité à se déplacer sur Toulouse, et qui s'est toujours montré présent et disponible. Merci également à mon tuteur, Manuel Plantegenest, pour m'avoir accompagné tout au long de ce stage.

Un grand merci à Eric Lecloux, technicien en expérimentation végétale, qui m'a été d'une précieuse aide dans mes manipulations expérimentales. Sans lui ce travail n'aurait pu aboutir. Merci pour ta bonne humeur quotidienne et pour les sorties terrain dans le Gers et dans l'Ariège.

Je tiens également à remercier Nathalie Séjalon-Delmas, Etienne-Pascal Journet, Christophe Roux et Magali San Cristobal, pour leurs présences lors des Comités de Pilotage qui ponctuaient mon stage et leurs conseils d'experts. Merci également à Arthur Maes et Nelly Paradelle, pour m'avoir apporté votre aide dans la réalisation de ce stage.

Merci à toutes les personnes qui m'ont accueillie à l'INRA de Toulouse et avec lesquelles j'ai pu partager six mois de plaisir : Mathieu, Christel, Maryse, Pablo, Didier(s), Michel, Céline, Damien, Marina, ...

Enfin je remercie mes parents, qui m'ont toujours soutenue, et qui ont su me transmettre des valeurs qui font ce que je suis aujourd'hui, me permettant ainsi d'avoir pu accomplir ces belles études.

Avant de conclure, je voudrais remercier toute l'équipe enseignante de GE et de PAM-EQ pour toute l'énergie humaine qu'ils emploient pour nous former et nous transmettre leurs connaissances.

Merci à tous, et si j'ai oublié de citer des personnes je m'en excuse d'avance.

* * *

Cher lecteur, toutes les personnes que je cite ci-dessus te sont sûrement inconnues, mais si la thématique de ce stage te plaît et si dans ton futur tu veux contacter l'une d'entre elles voici leurs coordonnées :

***Claire JOUANY**, Chargée de recherche INRA au département Environnement et Agronomie, UMR 1248 AGIR (Agroécologie, Innovations et Territoires), équipe Vasco (Variétés et Systèmes de Culture pour une production agro-écologique) : cjouany@toulouse.inra.fr

***Jean-François VIAN**, Enseignant-Chercheur Isara-Lyon, Soil Sciences – Soil Ecology, Département AGE (Agroécologie, Environnement) : jvian@isara.fr

***Manuel PLANTEGENEST**, Enseignant-Chercheur, Unité pédagogique - Ecologie et santé des plantes - UMR Agrocampus Ouest/INRA/Université de Rennes 1 - (IGEPP) Institut de génétique, environnement et protection des plantes : manuel.plantegenest@agrocampus-ouest.fr

***Éric LECLoux**, Technicien d'expérimentation végétale, UMR 1248 AGIR (Agroécologie, Innovations et Territoires), équipe Vasco (Variétés et Systèmes de Culture pour une production agro-écologique) : elecloux@toulouse.inra.fr

***Nathalie SEJALON-DELMAS**, Maître de conférences-Chercheur au Laboratoire de Recherches en Sciences Végétales (LRSV)-Université Toulouse III Paul Sabatier : nathalie.delmas@lrsv.ups-tlse.fr

***Etienne-Pascal JOURNET**, Chargé de recherche CNRS-INRA au département Environnement et Agronomie, UMR 1248 AGIR (Agroécologie, Innovations et Territoires), équipe Vasco (Variétés et Systèmes de Culture pour une production agro-écologique) : etienne-pascal.journet@toulouse.inra.fr

***Christophe ROUX**, Chercheur au Laboratoire de Recherches en Sciences Végétales (LRSV)-CNRS UMR 5546 et Professeur à Université Toulouse III Paul Sabatier : roux@lrsv.ups-tlse.fr

***Magali SANCRISTOBAL**, Directeur de recherche INRA, UMR GenPhySe (Génétique, Physiologie et Systèmes d'Élevage), équipe Dynagen (Dynamique des Génomes et des Populations) : magali.san-cristobal@toulouse.inra.fr

Diane RIVATON, diane.rivaton@gmail.com

CONTENU

I. Introduction	1
I.A-Systèmes de grandes cultures biologiques sans élevage et gestion de la fertilité des sols.....	1
I.B-Le projet INNOV AB : conception et optimisation de systèmes de culture innovants en grandes cultures biologiques sans élevage.....	2
I.C-Les Champignons Mycorhiziens Arbusculaires (CMA), Agriculture Biologique (AB) et Phosphore (P).....	2
I.C-1-La colonisation des racines par les CMA	3
I.C-2-CMA et Agriculture Biologique (AB).....	4
I.C-3-CMA, biodisponibilité du P et nutrition phosphatée de la culture	4
I.C-4-impact de la fertilisation sur les CMA	5
I.C-5-impact des rotations sur les CMA	5
I.C-6-CMA et système de culture	5
II.Matériels et Méthodes.....	7
II.A-Sites d'études et dispositifs expérimentaux.....	7
II.A-1-Sites d'études et systèmes de cultures	7
II.A-2-Dispositifs en serre.....	11
II.B- Prélèvements et analyses des plantes	12
II.B-1-Destruction des pots et prélèvements des échantillons d'étude.....	12
II.B-2- Préparation des racines pour l'observation des mycorhizes	12
II.B-3-Observation de la colonisation mycorhizienne et comptage des arbuscules.....	13
II.B-4-Comptage et caractérisation des spores de CMA dans les sols initiaux	15
II.B-5-Analyses Physico-Chimiques	15
II.C-Démarches statistiques.....	15
II.C-1-Variables utilisées dans les analyse statistiques	15
II.C-2-Démarche statistique.....	16
III.Résultats.....	17
III.A-Impact des systèmes Autonome et Productif sur les CMA et la culture	17
III.A-1-Site de La Saussaye.....	17
III.A-2-Site de La Hourre	18
III.A-3-Site de Dunière	18
III.A-4-Relation entre taux de mycorhization et nombre d'arbuscules	19
III.A-5-Système autonome et productif, spores de CMA et biodiversité	19
III.B-Etudes des relations entre CMA et P disponible dans le sol pour la culture	20
III.C-Description globale : les variables des systèmes qui impactent le potentiel mycorhizogène des sols	22
III.C-1-Graphes des variables.....	22
III.C-2-Graphes des Individus	23
IV.Discussion	24

IV.A- Systèmes Autonome vs Systèmes Productifs	24
IV.B- Diversité de CMA et Système de culture	28
IV.C- limites de notre étude	29
IV.D- Bilan : Vers une vision plus complexe du rôle des CMA dans le cycle du P au sein de l'écosystème sol .	30
V-Conclusion	31
Bibliographie.....	33
Annexes	

TABLES DES FIGURES ET DES TABLEAUX

Figure de présentation: De Gauche à droite : Champs de La Hourre, pois sous serre, racine de pois, Portion de cortex racinaire contenant des arbuscules et une vésicule de champignons mycorhizien, spore de Champignons Mycorhiziens Arbusculaires

Figure 1 : Schématisation de l'établissement de la symbiose mycorhizienne et du cycle de vie des CMA	3
Figure 2: Cycle simplifié du P dans les agro-systèmes montrant la répartition de stock total de P du sol entre les différents pools de P, et le rôle des CMA dans le transfert de P biodisponible à la plante	4
Figure 3 : Localisation des 3 sites d'étude.....	7
Figure 4: Localisation des 2 parcelles de 6 ha étudiées au sein du site de La Saussaye	8
Figure 5 :Rotations culturales et fumures des cinq Dernières années à la Saussaye (2011-2015)	8
Figure 6 : Localisation des 2 zones de références étudiées (ZR 8 et ZR 11) au sein du site de La Hourre	9
Figure 7: Rotations culturales et fumures des cinq dernières années à la Hourre (2010-2015).....	9
Figure 8 : Plan de l'essai de Dunière et localisation de la parcelle P2 étudiée au sein du site	10
Figure 9: Rotations culturales et fumures des cinq Dernières années à Dunière (2010-2015)	10
Figure 10 : Photos des plantations des pois en serre	11
Figure 11 : Vues schématique et réelle du protocole de découpage du système racinaire	12
Figure 12: Protocole de coloration des racines des pois mettant en évidence la mycorhization par les CMA	13
Figure 13 : Classification des différents niveaux de colonisation mycorhizienne du cortex racinaire d'après Trouvelot et al., 1986.....	14
Figure 14: Portion de cortex racinaire mycorhizé (microscope optique X 100) et Arbuscules (microscope optique X 400)	14
Figure 15 : Diversité de morphotypes de spores, récoltées sur le tamis 180µm, issues du sol limono argileux profond de la Saussaye en système Productif	15
Figure 16 : Effet du système (Autonome ou Productif) sur le taux de mycorhization (Saussaye)	17
Figure 17: Effet du système (Autonome ou Productif) sur le taux de mycorhization (Hourre)	18
Figure 18 : Effet du système (Autonome ou Productif) sur le taux de mycorhization (Dunière).....	18
Figure 19: Relation entre taux de mycorhization et nombre d'arbuscules	19
Figure 20 : Densité de spores de CMA et nombre de morphotypes selon le système Autonome vs Productif ...	20
Figure 21: Relation entre P Olsen et taux de mycorhization, nombre d'arbuscule, teneur en P, biomasse et densité de spores de CMA	21
Figure 22 : Graphes des variables de la PLS	22
Figure 23 : Graphes des individus de la PLS	23

Figure 24: Heat-Map de la PLS	24
Figure 25 : Network de la PLS.....	24
Figure 26 : Représentation schématique des interactions entre Mycorhizes et organismes de la rhizosphère pour le cycle du P	30

Tableau 1 : Synthèse bibliographique montrant un plus grand nombre de propagules, de diversité et de colonisation racinaire par les CMA dans les systèmes biologiques par rapport aux systèmes conventionnels	4
Tableau 2: Bilan de l'impact des pratiques culturales sur les CMA, d'après Gosling et al., 2006 ; adapté et complété d'après le rapport de stage d'Océane Vakoume, 2014 (données non publiées)	6
Tableau 3 : Synthèse des effets des systèmes SA et SP, à l'échelle du site et selon le type de sol, sur les teneur en P, N et la biomasse des pois (Saussaye)	17
Tableaux 4 : Synthèse des effets des systèmes SA et SP, à l'échelle du site, sur les teneurs en P, N et la biomasse des pois (Hourre).....	18
Tableaux 5: Synthèse des effets des systèmes SA et SP, à l'échelle du site et selon la conduite de culture, sur les teneurs en P, N et la biomasse des pois (Dunière)	19
Tableaux 6 : Densité de spores de CMA et nombre de morphotypes relevés dans chacun des 12 sols.....	19

TABLES DES ANNEXES

Annexe 1 : Les 12 sites expérimentaux du projet RotAB	
Annexe 2 : Positionnement du volet 'Mycorhizes' dans le projet INNOV AB	
Annexe 3 : Gestion de la fumure phosphatée à la Saussaye, la Hourre et Dunière.....	
Annexe 4 : Caractéristiques physico-chimiques des sols	
Annexe 5 : Plan du dispositif en serre	
Annexe 6 : Protocole détaillé et illustré de la récolte des pois	
Annexe 7 : Protocole de Coloration et observation des Mycorhizes (d'après Vierheilig <i>et al.</i> , 1998)	
Annexe 8 : Protocole d'extraction des spores de CMA par tamisage par voie humide (adapté de Gerdemann et Nicholson, 1963)	
Annexe 9 : Effet système (Autonome vs Productif) sur le taux de mycorhization et le nombre d'arbuscules	
Annexe 10 : Effet système (Autonome vs Productif) sur la teneur en P des pois	
Annexe 11 : Effet système (Autonome vs Productif) sur la biomasse des pois	
Annexe 12 : Effet système (Autonome vs Productif) sur la teneur en N des pois	
Annexe 13 : Taux de mycorhization, nombre d'arbuscules et densité de spore de CMA, en fonction de la teneur en N total du sol et de la teneur en N des pois	
Annexe 14 : Effet système (Autonome vs Productif) sur le nombre de spores et de morphotypes de CMA	
Annexe 15 : Morphotypes de CMA identifiés au sein du site de la Saussaye	
Annexe 16 : Taux de mycorhization en fonction du nombre de spores de CMA.....	
Annexe 17: Test du Q2 de la méthode PLS	

GLOSSAIRE

ARBUSCULE = Structure typique de la symbiose des champignons mycorhiziens à arbuscules qui se développe dans les cellules pénétrées par le mycélium du champignon et au niveau de laquelle ont lieu les échanges entre la plante et le champignon. Cette structure doit son nom à sa forme qui rappelle celle d'un arbuste (Pierart, 2012)

ASCOMYCETE = champignon chez lequel les spores sexués (ascospores) se forment à l'intérieur de cellules spécialisées appelées asques (Garbaye, 2013)

BASIDIOMYCETE = champignon chez lequel les spores (basidiospores) se forment à l'extérieur de cellule spécialisées appelées basides (Garbaye, 2013)

BIOINDICATEUR = « Un indicateur biologique (ou bio-indicateur) est un organisme ou un ensemble d'organismes qui - par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques - permet, de façon pratique et sûre, de caractériser l'état d'un écosystème ou d'un écosystème et de mettre en évidence aussi précocement que possible leurs modifications, naturelles ou provoquées » (Blandin, 1986)

GLOMEROMYCETE = Embranchement du règne fongique regroupant des champignons archaïques au mycélium invisible à l'œil nu et ne formant pas de fructification (carpophore). La totalité des espèces de cet embranchement sont inféodées à la symbiose endomycorhizienne (Pierart, 2012)

HYPHE = Filaments cellulaires constituant le mycélium des champignons supérieurs (Pierart, 2012)

MYCELIUM = Ensemble des filaments constituant le corps d'un champignon (Garbaye, 2013)

MYCORHIZE = (du grec *'mukês'* pour champignon et *'rhiza'* pour racine) Association symbiotique d'un champignon avec les racines d'une plante (Pierart, 2012)

PLANTE 'PIEGE' = Plante utilisée pour 'piéger' les CMA présents dans différents sols que l'on souhaite comparer. Après récolte, on mesure le taux de mycorhization des systèmes racinaires.

SPORE = organe de stockage et de propagation des CMA. Elle germe et donne naissance à des filaments mycéliens (Harley et Smith, 1983 ; Bonfante-Fasolo, 1984 cité par Hamza Nabila, 2014)

SYMBIOSE = Relation entre deux organismes hétérospécifiques (espèces différentes) qui se traduit par des effets bénéfiques aussi bien pour l'un que pour l'autre (Frank 1977, De Bary 1879 cité par Wipf, 2013)

VESICULE = structure de stockage à paroi fine, à contenu lipidique qui apparaît généralement dans les espaces intercellulaires (Hamza Nabila, 2014)

ABBREVIATIONS

AB = Agriculture Biologique

AGFEE = Association de Gestion de la Ferme Expérimentale d'Etoile (site de Dunière)

CEC = Capacité d'Echange Cationique

CETIOM = aujourd'hui appelé Terre Inovia = Institut technique des producteurs d'oléagineux, de protéagineux, de chanvre et de leurs filières

CMA = Champignons Mycorhiziens Arbusculaires

CREAB = Centre Régional de Recherche et d'Expérimentation en Agriculture Biologique

FNAMS= Fédération National des Agriculteurs Multiplicateurs de Semences

N = Azote

PAT= Protéine Animale Transformée

P = Phosphore

PO₄ = Phosphate

SA = Système Autonome

SP = Système Productif

I. INTRODUCTION

I.A-SYSTEMES DE GRANDES CULTURES BIOLOGIQUES SANS ELEVAGE ET GESTION DE LA FERTILITE DES SOLS

Le développement d'une agriculture biologique (AB) et durable doit se baser sur l'autosuffisance énergétique et biologique du système plutôt que sur les apports externes afin d'entretenir la fertilité de ses sols (Watson *et al.*, 2002). La fertilité d'un sol est définie comme « sa capacité, dépendant des réserves naturelles de substances nutritives et de la quantité d'eau disponible, à nourrir les plantes et les animaux ; la fertilité des sols est influencée par les formes d'utilisation de la terre. L'activité des organismes vivants dans le sol joue un rôle particulièrement important dans cette fertilité » (Convention sur l'utilisation durable des sols de 1998 citée par Menasseri-Aubry, 2015). Ainsi, au-delà du fondement principal de l'AB décrit par la loi d'orientation agricole du 4 juillet 1980 comme « une agriculture n'utilisant pas de produits chimiques de synthèse », les systèmes de cultures agrobiologiques mettent en avant, plus qu'en conventionnel, le rôle des processus naturels inhérents au sol (chimiques et biologiques) pour la fourniture d'éléments assimilables par la culture en place et pour la maîtrise des adventices (introduction de légumineuses dans la rotation, gestion de l'inter-culture, associations de cultures,...) (Bernier *et al.*, 2013 ; ITAB, 2016).

Dans les systèmes biologiques sans élevage la gestion de la fertilité des sols est une question d'autant plus centrale du fait de l'absence de la ressource en amendements organiques issus des effluents d'élevage ; ces spécificités obligent à recourir à des intrants organiques extérieurs pour satisfaire ses besoins au niveau de la sole arable. Cependant les agriculteurs raisonnent souvent leurs apports uniquement sur la base de l'azote (N), un des principaux facteurs limitant en AB. L'insertion de légumineuses dans les rotations culturales semble être un moyen efficace pour gérer l'azote dans les systèmes biologiques (Watson *et al.*, 2002). Néanmoins, le phosphore (P) est également un élément majeur pour la culture, et bien que la gestion de la fertilité phosphatée fasse l'objet de débats dans un contexte de diminution future des ressources en phosphore, il s'agit du principal élément dont la biodisponibilité dans les sols tend à diminuer en AB (Colomb *et al.*, 2013). Or il n'existe pas de gestion spécifique pour le P : les apports d'engrais phosphatés aux champs se font de manière indirecte, dans le sens où les engrais apportés pour le N contiennent également une part plus ou moins importante de P. Bien qu'une situation de déficit phosphaté déclarée des cultures AB ne soit pas encore évoquée, l'anticipation de telles situations doit se réfléchir aujourd'hui. D'après le RCE (Règlement Communautaire Européen), les seuls apports autorisés en AB doivent être issus d'épandage de matières organiques provenant de la production biologique, ou issus d'engrais vert enfouis, ou d'engrais organique du commerce, ou d'engrais autorisés inscrits en annexe de ce règlement. Pour le P, les apports peuvent se réfléchir, certes par des engrais organiques du commerce, mais aussi *via* des scories de déphosphoration, des plumes hydrolysées ou des PAT. Néanmoins ces intrants sont très onéreux et leurs formes restent relativement insolubles ; leurs effets sur la disponibilité du phosphore dans les sols AB sont souvent limités voire nuls (Colomb *et al.*, 2013 ; Morel *et al.*, 2006).

Contrairement à l'agriculture conventionnelle où il est possible de maîtriser de manière assez précise les facteurs limitants la production grâce à l'utilisation d'intrants de synthèse, en AB, du fait de l'impossibilité de moyens de rattrapage chimiques, la recherche de solutions techniques doit se baser sur l'étude globale des systèmes de culture, en prenant en compte, dans la durée, un ensemble cohérent de facteurs (ITAB, 2016). De fait, il existe alors des interactions complexes entre les différentes composantes mises en place dans un système AB. Afin de comprendre et gérer l'ensemble de ces interactions il est nécessaire de poser les questions à l'échelle du système de culture. C'est bien là la démarche mise en œuvre dans le projet Innov' AB qui cherche à tester et évaluer, au sein de différents systèmes, quels sont les leviers techniques qui pourraient être efficaces pour produire mieux et plus durablement en AB.

I.B-LE PROJET INNOV AB : CONCEPTION ET OPTIMISATION DE SYSTEMES DE CULTURE INNOVANTS EN GRANDES CULTURES BIOLOGIQUES SANS ELEVAGE.

Le projet Innov' AB (2014-2016), financé par le Casdar (Compte d'Affectation Spéciale pour le Développement Agricole et Rural), développe un de ses axes sur des questions de gestion de la fertilité des sols en AB. Les trois actions du projet (expérimenter, évaluer, valoriser et diffuser) s'appuient sur le Réseau RotAB, animé par l'Institut Technique de l'Agriculture Biologique (ITAB), qui rassemble 12 essais systèmes en grandes cultures biologiques (Annexe 1). Ces dispositifs expérimentaux, répartis sur la France entière, couvrent une grande diversité de contextes et d'objectifs. En place récemment ou depuis plus de 10 ans, ils ont tous pour objectif d'évaluer la durabilité et les performances de systèmes de cultures innovants en grandes cultures biologiques. Une partie de ce projet est donc orientée sur l'étude de l'effet des systèmes sur la fertilité des sols et la biodisponibilité des éléments N, P et K. Le P étant une problématique importante en AB, une des sous-tâches du projet s'intéresse plus particulièrement à sa biodisponibilité et au potentiel mycorhizogène des sols. Ce potentiel est défini comme la capacité des Champignons Mycorhiziens Arbusculaires (CMA) présents dans le sol à mycorhizer les racines des cultures ; il a été relié à la disponibilité du P pour les cultures (Gosling et al., 2006 ; Gavériaux, 2012). Ainsi, l'objectif de cette sous-tâche est d'évaluer l'effet de différentes techniques ou des combinaisons de techniques innovantes (type, fréquence et quantité d'apports organiques, insertion de légumineuses, rotations,...) sur le taux de mycorhization (Annexe 2). Par ailleurs, une des questions posée par les gestionnaires techniques des différents sites expérimentaux était d'évaluer la sensibilité, la robustesse et la capacité de cet indicateur à révéler l'influence de pratiques culturales innovantes sur la qualité biologique du sol. Une première expérience menée *in situ* en 2014 avait pour objectif d'évaluer la pertinence de l'utilisation de cet indicateur dans un contexte d'expérimentation système et de vérifier s'il existait une relation entre le taux de mycorhization des racines par les CMA et la teneur en P de la plante. L'étude a montré que cet indicateur n'était pas suffisamment fiable (peu robuste et peu discriminant), et que son interprétation dans le cadre d'essais systèmes restait trop aléatoire, en raison de trop nombreuses sources de variabilité (Océane Vakoume, 2014 (données non publiées)). De nouveaux objectifs ont été définis pour 2016, il s'agit de tester les sols en conditions standardisées et contrôlées (en pot, sous serre) afin de mieux maîtriser les paramètres culture et de s'affranchir d'un maximum de facteurs de variabilité (espèce, climat...). Nous avons choisi le pois comme plante piège. Nous faisons l'hypothèse que ces conditions expérimentales normalisées permettront de mieux comparer les sols et donc de mieux rendre compte de l'effet du système de culture sur ce potentiel mycorhizogène du sol.

I.C-LES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS ARBUSCULAIRES (CMA), AGRICULTURE BIOLOGIQUE (AB) ET PHOSPHORE (P)

Plus de 95% des plantes terrestres peuvent vivre en symbiose avec les champignons (Smith et Read, 1997). Les Basidiomycètes, Ascomycètes et Gloméromycètes sont les trois seuls groupes de champignons connus qui ont la possibilité de mettre en place des symbioses *via* leur association avec les racines des plantes pour former des mycorhizes (Garbaye, 2013) ; du grec « *mykès* » qui signifie *champignon* et « *rhiza* » qui signifie *racine*. La symbiose mycorhizienne est donc une association symbiotique entre une plante et un champignon mycorhizien. Le terme de symbiose se définit ici comme une relation entre deux organismes hétérospécifiques qui se traduit par des effets bénéfiques aussi bien pour l'un que pour l'autre (De Barry, 1879 cité par Wipf, 2013). A l'heure actuelle, environ 200 espèces de Gloméromycètes sont connus (Karandashov et Bucher, 2005 ; Oehl et al., 2011 ; Gavériaux, 2012 ; Garbaye, 2013). Les endomycorhizes établies par les CMA de la classe des Gloméromycètes sont les plus courantes, plus de 80% des plantes terrestres sont concernées (Gavériaux, 2012 ; Garbaye, 2013). Toutefois, il existe des plantes non mycotrophes, c'est le cas des Brassicacées (choux, navet, colza), des Chénopodiacées (betterave, épinard), des polygonacées (renouée, oseille, rhubarbe, sarrasin) (Garbaye, 2013).

I.C-1-LA COLONISATION DES RACINES PAR LES CMA

L'établissement de la symbiose entre la plante et le CMA s'effectue *via* un échange de signaux moléculaires. La reconnaissance entre le champignon et la plante-hôte met en jeu les exsudats racinaires et fongiques (Figure 1.A) : les flavonoïdes et les strigolactones, substances chimiques émises par la plante-hôte, vont stimuler l'activité métabolique du champignon (Stevenin, 2011 ; Gavériaux, 2012). Elles vont induire chez le CMA l'expression du gène *Myc* puis de facteurs *Myc*. Ces facteurs *Myc* vont induire des déformations dans les cellules de l'hôte pour l'établissement de la symbiose, ainsi que la croissance des hyphes colonisant les racines (Stevenin, 2011). Une spore de champignon germe, le mycélium croît en direction de la racine, et lorsque le champignon perçoit la présence d'une plante hôte, il manifeste une réaction typique de ramification intense des hyphes appelée « branching » (Figure 1.B).

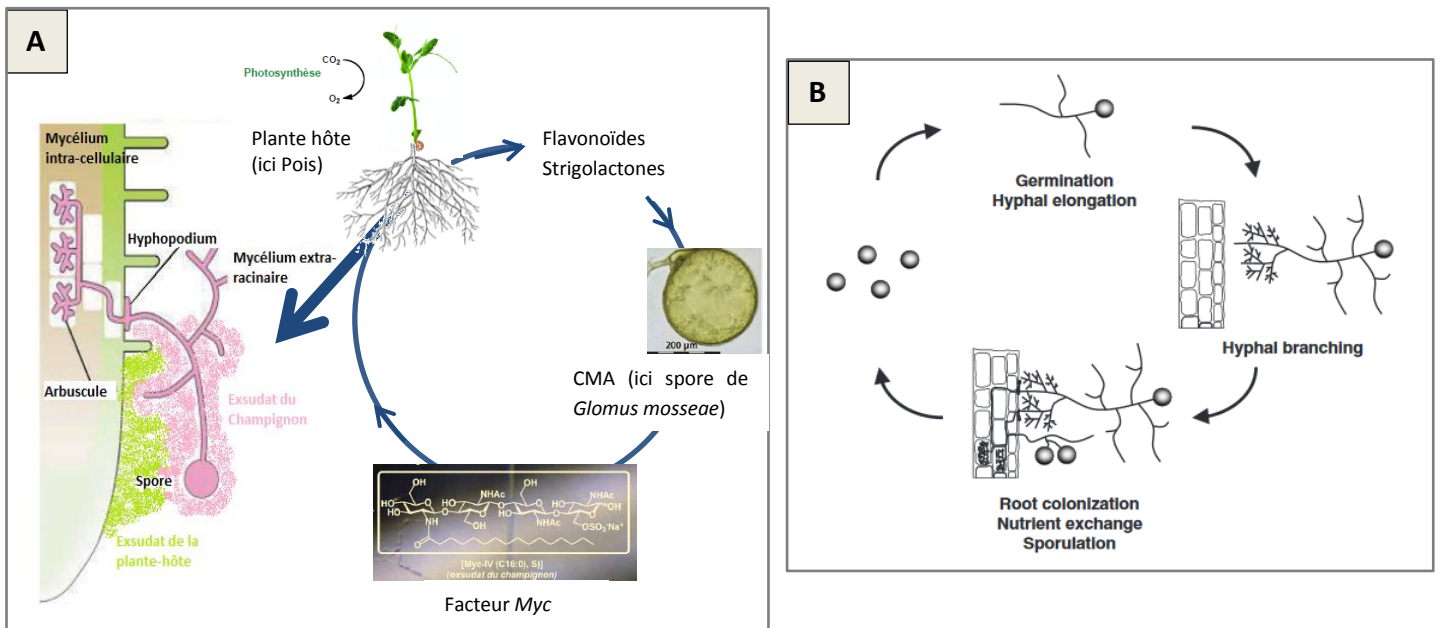


Figure 1 : Schématisation de l'établissement de la symbiose mycorhizienne (A) et du cycle de vie des CMA ((B), modifié d'après Akiyama, 2007)

Les hyphes adhèrent ensuite aux parois externes des cellules de la racine, formant un hyphopodium, avant de les perforer en sécrétant des enzymes qui vont détruire la cellulose, les hémicelluloses et les pectines constituant ces dernières. Une fois à l'intérieur de la cellule, les hyphes se ramifient par dichotomie en donnant des hyphes ayant un diamètre de plus en plus petit ; à partir d'un hyphes initial de 10 µm de diamètre, les dernières ramifications peuvent atteindre moins de 1 µm de diamètre. L'ensemble de ces ramifications prend une forme de petit arbre : les arbuscules, lieux des échanges symbiotiques, qui donnent le nom à ces champignons (Gavériaux, 2012 ; Garbaye, 2013). Les arbuscules sont des structures spécialisées dans le transfert de l'eau et des éléments nutritifs entre le champignon et la plante; pour le phosphore le transfert s'effectue sous forme d'ions orthophosphates via des transporteurs spécialisés insérés dans les membranes cellulaires à l'interface entre la plante et le champignon. Les sucres provenant de la plante sont conduits en sens opposé par des transporteurs d'hexoses qui sont d'autres canaux spécialisés (Karandashov et Bucher, 2005 ; Garbaye, 2013). Après différenciation des structures intra-racinaires, le champignon produit des spores à partir de son mycélium extra-racinaire (Akiyama *et al.*, 2007). Tous ces mécanismes de communication moléculaires sont encore peu connus mais la recherche progresse régulièrement grâce notamment aux progrès de la génomique (Garbaye, 2013).

I.C-2-CMA ET AGRICULTURE BIOLOGIQUE (AB)

La capacité des CMA du sol à mycorhizer les cultures diffère entre les systèmes de culture biologique et les systèmes conventionnels (Tableau 1). La plupart de la bibliographie semble s'accorder sur le fait que la colonisation racinaire, le nombre de spores ainsi que la diversité des CMA semblent être favorisés pour les systèmes de culture conduits en AB (Gosling *et al.*, 2006 ; Oehl *et al.*, 2011 ; Garbaye, 2013 ; Dai *et al.*, 2014).

Characteristic	Reference
Greater root colonisation on organic soil ^a	Bending <i>et al.</i> (2004), Douds <i>et al.</i> (1993, 1995), Eason <i>et al.</i> (1999), Kahiluoto and Vestberg (1998), Mäder <i>et al.</i> (2000), Ryan and Ash (1999), Ryan <i>et al.</i> (1994, 2000, 2004)
Larger number of AMF spores in organic soil ^a	Douds <i>et al.</i> (1993, 1995), Galvez <i>et al.</i> (2001), Kahiluoto and Vestberg (1998), Eason <i>et al.</i> (1999), Oehl <i>et al.</i> (2003, 2004)
Greater diversity of AMF in organic soil	Oehl <i>et al.</i> (2003, 2004)

^a Results may not be consistent between different experiments within the same reference.

Tableau 1 : Synthèse bibliographique montrant un plus grand nombre de propagules, de diversité et de colonisation racinaire par les CMA dans les systèmes biologiques par rapport aux systèmes conventionnels. D'après Gosling *et al.*, 2006

I.C-3-CMA, BIODISPONIBILITE DU P ET NUTRITION PHOSPHATEE DE LA CULTURE

Le phosphore est un composé essentiel du vivant. Il se retrouve notamment dans les acides nucléiques et les protéines. Par conséquent, c'est un élément génétique, énergétique et plastique de la matière vivante. Dans le monde agricole, le phosphore joue un rôle physiologique à plusieurs niveaux. Il favorise la croissance de la plante, son action étant conjuguée à celle de l'azote, le développement des racines, la rigidité des tissus, la reproduction et la qualité des produits végétaux. Dans le sol, le phosphore est lié à la matière organique et à la fraction minérale du sol : les ions phosphates sont retenus dans les colloïdes ou souvent immobilisés sous forme de phosphate de fer ou d'aluminium (Gavériaux, 2012). Seule une infime partie se trouve sous forme d'ions orthophosphates (PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , $H_2PO_4^-$), unique forme assimilable par les racines des plantes, dans la solution du sol. La concentration en phosphore de la solution du sol est faible, de l'ordre de 0.2 mg de P/L (UNIFA, 2016). Cette réserve doit donc être constamment renouvelée afin de satisfaire la nutrition phosphatée de la culture (Figure 2). Pour ce faire, les plantes ont évolué pour élaborer des mécanismes facilitant l'absorption du phosphate ; la formation d'associations symbiotiques avec les champignons du sol est une de ces stratégies (Karandashov et Bucher, 2005).

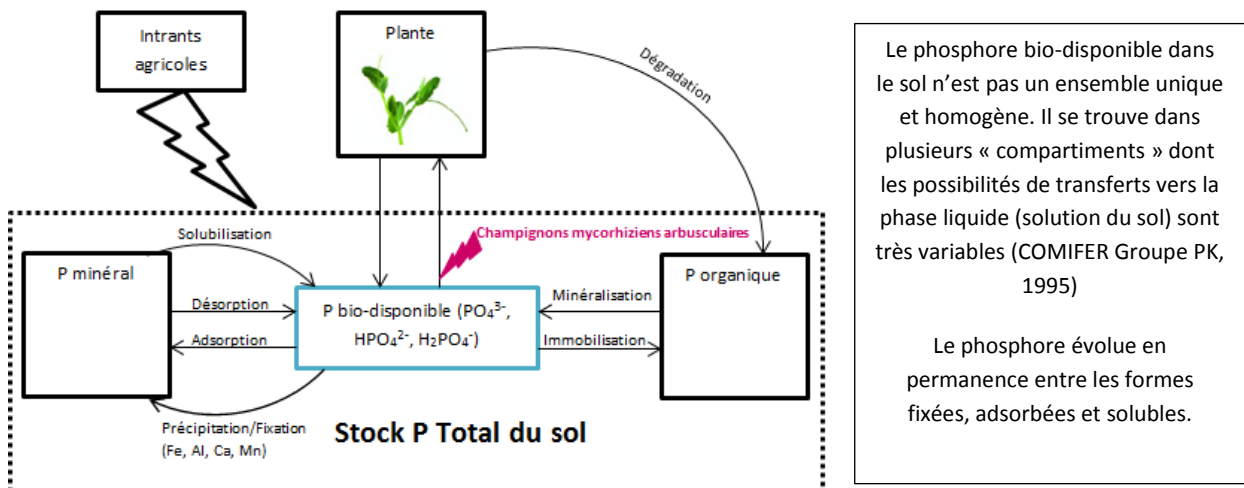


Figure 2 : Cycle simplifié du P dans les agro-systèmes montrant la répartition de stock total de P du sol entre les différents pools de P, et le rôle des CMA dans le transfert de P biodisponible à la plante (🌱), modifié et adapté d'après Plassard *et al.*, 2015.

En AB, comme ce ne sont pas des fertilisants minéraux de synthèse qui sont utilisés mais des fertilisants organiques, une part importante du P présent dans le sol est sous une forme organique et n'est donc pas disponible immédiatement pour les plantes ; cependant ce compartiment représente une source potentiellement importante de P pour les cultures à la condition qu'il soit minéralisé. Ce stock de P doit donc

être recyclé par des voies biologiques pour devenir disponible pour les plantes. La contribution des CMA à la fertilité phosphatée des sols vient principalement de leur capacité à explorer un plus grand volume de sol grâce à l'établissement de nombreux hyphes donnant ainsi accès à une ressource en P supérieure pour la plante. Secondairement, et de manière plus faible, les CMA peuvent participer à rendre bio-disponible le P du sol grâce aux phosphatases qu'ils excrètent ; il s'agit d'enzymes qui dégradent le phosphore organique en orthophosphates. Les ions phosphates absorbés par les CMA ont trois allocations possibles : une partie est utilisée par le champignon, une autre partie est cédée à la plante via l'interface arbusculaire, et le reste est mis en réserve dans les vacuoles du CMA sous forme de polyphosphates (Gavériaux, 2012). Les CMA semblent donc potentiellement bénéfiques à la plante hôte en augmentant le prélèvement des ions phosphates pour la plante (Gosling *et al.*, 2006).

I.C-4-IMPACT DE LA FERTILISATION SUR LES CMA

L'établissement de la symbiose est aussi largement contrôlé par le régime de fertilisation au champ. En effet, une sur-fertilisation en P induit une diminution de la colonisation racinaire par les CMA (Garbaye, 2013). Même un apport modéré de fertilisant phosphaté conduit sur 5 ans, à raison de 45kg de Pminéral/ha/an, réduit le nombre de spores de 50% (Martensson et Carlgren, 1994 cités par Gosling *et al.*, 2006). Jensen et Jabobsen (1980) ont montré, *in situ*, que plus l'apport de P était important (0-15 et 30 kg de P minéral/ha), plus la colonisation des racines d'orge était faible. Par ailleurs, cette étude a montré, en faisant varier de manière conjointe la fertilisation N et P, que la colonisation racinaire ainsi que le nombre de spores de CMA, étaient plus élevés pour les sols ayant reçu 0kgN/ha et 0kgP/ha par rapport à ceux ayant reçu 75kgN/ha et 12kgP/ha.

NB : Dans la littérature scientifique, les études réalisées concernant l'impact de la fertilisation sur les CMA n'expérimentent souvent que des apports différents de P minéral et non de P organique.

I.C-5-IMPACT DES ROTATIONS SUR LES CMA

La rotation des cultures est une stratégie sur laquelle s'appuie l'AB afin de maîtriser les adventices, les maladies, mais aussi pour assurer un entretien de la fertilité des sols avec une attention toute particulière portée à l'alimentation azotée par l'insertion de légumineuses (Stockdale *et al.*, 2001 cité par Watson *et al.*, 2002). Diversifier les espèces dans les rotations en incluant des couverts entre les cultures de rentes, semble jouer un rôle décisif dans l'amélioration du potentiel mycorrhizogène des sols (Mäder *et al.*, 2000). De plus, les rotations des cultures affectent à la fois la diversité et la composition des communautés de spores de CMA dans le sol, avec une plus grande diversité des CMA sous rotations des cultures par rapport à de la monoculture (Oehl *et al.*, 2003; Vestberg *et al.*, 1999 cité par Jansa *et al.*, 2006).

I.C-6-CMA ET SYSTEME DE CULTURE

L'amélioration de la fertilité des sols en AB repose sur l'amélioration de la compréhension des effets des systèmes de culture sur cette fertilité du sol. Du fait de la complexité des interactions entre les différents composants d'un système de culture, l'AB doit reposer sur une approche intégrative de l'ensemble du système de culture afin de cibler des stratégies durables d'entretien de la fertilité des sols (Watson *et al.*, 2002).

Sebillotte (1990) propose la définition d'un système de culture comme : «L'ensemble des modalités techniques mises en œuvre sur des parcelles cultivées de manière identique. Chaque système se définit par : la nature des cultures et leur ordre de succession, les itinéraires techniques appliqués à ces différentes cultures, ce qui inclut le choix des variétés. L'itinéraire technique est lui-même défini comme une combinaison logique et ordonnée de techniques qui permettent de contrôler le milieu et d'en tirer une production donnée». Dans une expérimentation système, beaucoup de paramètres changent (rotation/fertilisation/...). C'est donc la résultante d'une combinaison de pratiques sur l'atteinte d'un ou plusieurs objectifs assignés au système testé qui est mesurée. Les objectifs assignés aux systèmes de cultures testés peuvent être de plusieurs ordres et plus ou moins précis selon le cadre de l'expérimentation : préserver voire améliorer la qualité des sols, stabiliser les performances de production, diminuer les intrants,...

Peu d'expérimentations système ont été décrites dans la littérature et rares sont celles traitant de l'impact du système sur le potentiel mycorrhizogène des sols (Tableau 2). Kahiluoto *et al.* (2009) ont utilisé le lin (*Linum usitatissimum* L.) et le trèfle (*Trifolium pratense* L.) comme plantes pièges, cultivées en serre, pour tester les sols provenant de deux systèmes de culture conventionnels. Un système bas-intrant (rotation blé+pois – orge – trèfle – seigle/incorporation des résidus/engrais verts/ avec apports d'apatite pour le P) et un système à haut niveau d'intrant (blé – orge – orge – seigle/pas de légumineuses/ avec fertilisation minérale). La colonisation par les CMA était plus élevée dans le système bas-intrants par rapport à celui à haut niveau d'intrants et a permis une amélioration du prélèvement de P de 68% par rapport à un témoin non mycorhizé (stérilisation) contre 36% dans le système à haut niveau d'intrants.

Pratiques agricoles	BILAN : Impacts sur le CMA
Apport de fertilisants minéraux	<p>*Fertilisants en Phosphore : réduction de la colonisation fongique, de la densité et de la diversité des spores (Gosling <i>et al.</i>, 2006).</p> <p>*Fertilisants azotés (facilement solubles) : réduction de la colonisation et/ou la diversité des AMF (Gosling <i>et al.</i>, 2006)</p>
Apport de amendements organiques	<p>*Sources organiques à minéralisation lentes (fumier, compost, résidus de culture) : stimulation des CMA (Ryan <i>et al.</i> (1994) ; Alloush et Clark (2001), cités par Gosling et al, 2006).</p> <p>*Source organique riche en P (ex : fumier de volaille) : possible impact négatif sur les CMA (Gosling et al, 2006)</p> <p>*Tout amendement organique : effet non prédictif et non généralisable sur les CMA (Jordan <i>et al.</i> (2000) cité par Gosling <i>et al.</i>, 2006)</p>
Apport d'amendements calco-magnésiens	<p>*Chaux : augmentation de la densité de populations mycorrhiziennes (Hamel <i>et al.</i> (1994) cité par Gosling <i>et al.</i>, 2006) et modification dans les espèces dominantes (Sano <i>et al.</i> (2002) cité par Gosling <i>et al.</i>, 2006)</p>
Apport de biocides	<p>*Tout biocide : altération de la nature et de la quantité des exsudats racinaires et réduction de la colonisation et de la sporulation des CMA (Gosling <i>et al.</i>, 2006)</p>
Travail du sol	<p>*Tout travail du sol : destruction du réseau d'hyphes des CMA (O'Halloran <i>et al.</i> (1986) cité par Gosling <i>et al.</i>, 2006), réduction et/ou retardement de la colonisation fongique, diminution du volume de sol exploré par les CMA et éventuelle réduction de l'absorption des nutriments pour la culture (Evans et Miller (1988) cité par Gosling <i>et al.</i>, 2006) ; favorise des espèces de CMA colonisant à partir de spores déviant les ressources nutritives pour leur sporulation plutôt que pour la plante hôte (Johnson <i>et al.</i> (1992) cité par Gosling <i>et al.</i>, 2006)</p> <p>*Non-labour : améliore la colonisation mycorrhizienne, la densité d'hyphes et le prélèvement de nutriment (Gosling <i>et al.</i>, 2006)</p>
Pratiques culturales	<p>*Monoculture : sélection d'espèces de CMA sporulant rapidement, déviant les ressources des plantes hôtes pour leur propre croissance et reproduction (Gosling <i>et al.</i>, 2006).</p> <p>*Diversification dans les rotations culturales : Amélioration du potentiel mycorrhizogène des sols (Mäder <i>et al.</i>, 2000) et de la diversité des CMA (Oehl <i>et al.</i>, 2003)</p> <p>*Culture non mycotrophe (culture principale ou interculture) : décroissance du nombre de fragments d'hyphes, et pour les cultures mycorhizées futures : réduction et/ou retard de la colonisation fongique, réduction de l'absorption des nutriments (Gosling <i>et al.</i>, 2006)</p> <p>*Sol nu : carences en P et Zn, réduction du nombre de propagules, de la colonisation par les CMA, de l'absorption des éléments minéraux (Gosling <i>et al.</i>, 2006)</p>

Tableau 2 : Bilan de l'impact des pratiques culturales sur les CMA, d'après Gosling *et al.*, 2006 ; adapté et complété d'après le rapport de stage d'Océane Vakoume, 2014 (données non publiées)

Les résultats issus de l'analyse de tels systèmes pourraient permettre de proposer des combinaisons des pratiques culturales limitant les impacts négatifs sur l'environnement tout en permettant d'améliorer la gestion de la fertilité des terres des systèmes de grandes cultures biologiques.

Au regard de la littérature et des objectifs du volet 'mycorhizes' du programme Innov' AB, nous allons répondre à 2 grandes questions :

Question 1 : Est-ce que des systèmes de grandes cultures biologiques, différenciés par des régimes de fertilisation contrastés, ont des effets différents sur la capacité des CMA à mycorhizer les racines d'une plante piège? Nous nous focaliserons sur la problématique de la nutrition phosphatée.

Question 2 : Est-ce que le taux de mycorhization pourrait être un indicateur rendant compte de l'effet des différents systèmes de culture sur la fertilité des sols en termes de phosphore ?

Pour répondre à la première question ;

Tout d'abord, nous formulons l'hypothèse (i) que des systèmes à bas niveaux d'apports de fertilisants organiques (dénommés ici systèmes autonomes (SA)) sont plus favorables à la mise en place d'une symbiose mycorhizienne avec la culture par rapport à des systèmes à hauts niveaux de fertilisation (dénommés ici systèmes productifs (SP)). Pour ce faire, nous allons vérifier si le taux de mycorhization et le nombre d'arbuscules sont plus importants en SA.

Puis, afin de vérifier notre deuxième hypothèse, à savoir, (ii) qu'un sol ayant de faible disponibilité en P se traduit par une culture ayant un fort taux de mycorhization et d'arbuscules dans ses racines, nous allons regarder s'il existe une relation entre le taux de mycorhization, le nombre d'arbuscules et le P Olsen du sol. Le P Olsen étant l'indicateur que nous avons choisi afin de refléter le régime de fertilisation phosphatée.

Ensuite, à partir de ces deux hypothèses, nous pourrons savoir si, dans les systèmes autonomes, la mycorhization permet à la plante d'avoir un niveau de nutrition P équivalent à celui du traitement SP et donc une croissance équivalente.

D'autre part, pour vérifier l'hypothèse (iii) que le nombre de spores et la diversité des CMA est davantage présente en système autonome, nous vérifierons si un système autonome se caractérise par un nombre de spores et une diversité de CMA plus importante qu'en SP.

Enfin, la réponse à la deuxième question, fera l'objet d'une discussion au regard des connaissances et des résultats obtenus pour répondre à la première question.

II. MATERIELS ET METHODES

II.A-SITES D'ETUDES ET DISPOSITIFS EXPERIMENTAUX

II.A-1-SITES D'ETUDES ET SYSTEMES DE CULTURES

Ce projet de recherche a été mené sur 3 sites expérimentaux du réseau RotAB : La Hourre (Gers (32)), La Saussaye (Eure et Loire (28)) et Dunière (Drôme (26)) (Figure 3). Sur chacun de ces 3 sites, nous comparons un système dit Autonome (SA) recevant peu ou pas de fertilisants organiques, et un système Productif (SP) recevant des fertilisants organiques.

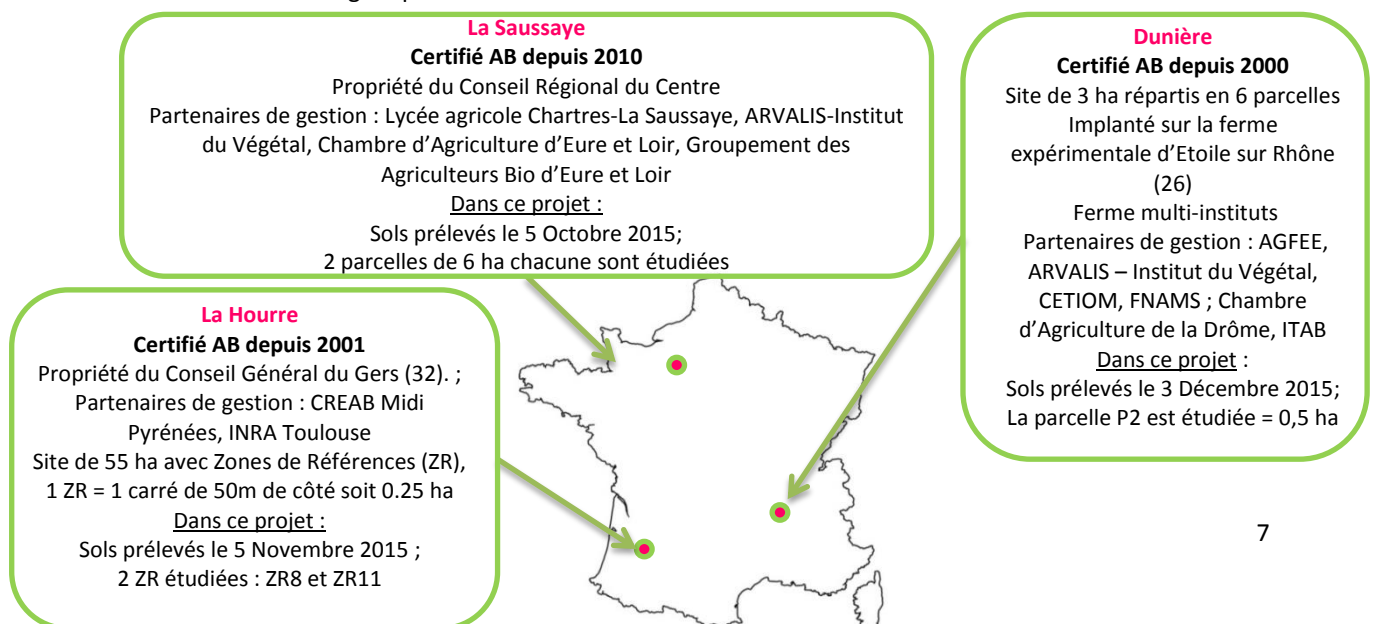


Figure 3: Localisation des 3 sites d'étude

II.A-1-1-La Saussaye

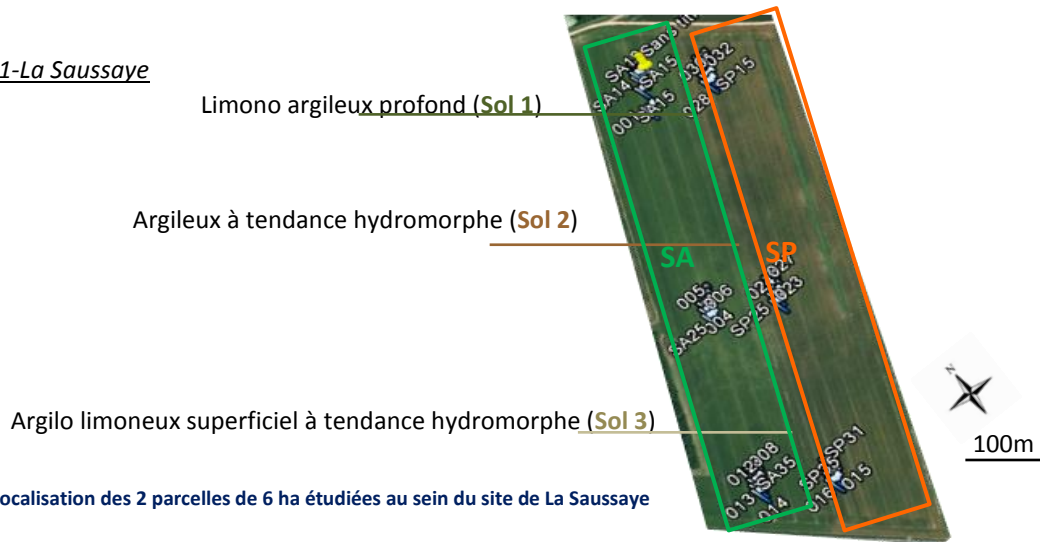


Figure 4: Localisation des 2 parcelles de 6 ha étudiées au sein du site de La Saussaye

Le dispositif comprend deux parcelles sur lesquelles nous testons deux systèmes de culture (Figure 4):

-Le '**Système Autonome**' (SA) sans aucun apport de matière organique exogène et le moins possible d'interventions sur culture (en moyenne 1 labour tous les 3 ans). Les rotations sont caractérisées par une grande part de légumineuses et un sol peu perturbé du fait d'une luzerne en place pendant 3 ans (Figure 5).

-Le '**Système Productif**' (SP) avec des apports d'engrais organiques et de fumier équin composté, ainsi que des recours des engrais organiques, et des interventions mécaniques qui ne sont pas limitées (en moyenne un labour tous les 2 ans). Les rotations sont caractérisées par une grande part de cultures de printemps, peu diversifiées, et la présence d'une espèce non mycotrophe (Colza) (Figure 5).

Entre les deux systèmes, il existe un facteur 70 dans les apports moyens annuels de P : les fumures réalisées sont décrites en Figure 5 et en Annexe 3. Ces deux systèmes sont conduits en sec, c'est-à-dire sans irrigation ; les deux parcelles possèdent 3 types sols différents : limono argileux profond (Sol 1), argileux à tendance hydromorphe (sol 2), argilo limoneux superficiel à tendance hydromorphe (sol 3) (Figure 4).

Les caractéristiques physico-chimiques de ces sols (cf. méthodologie détaillée un peu plus loin) sont données en annexe 4, et montrent que le P bio-disponible dans le sol (P Olsen) est entre 20 et 50 % plus élevé en SP qu'en SA. Comparativement aux deux autres sols, le sol 3 présente les valeurs les plus basses de teneur en argile, de pH, de P Olsen et de MO ; le sol 2 à l'inverse présente les valeurs les plus élevées, et le sol 1 présente des valeurs intermédiaires.

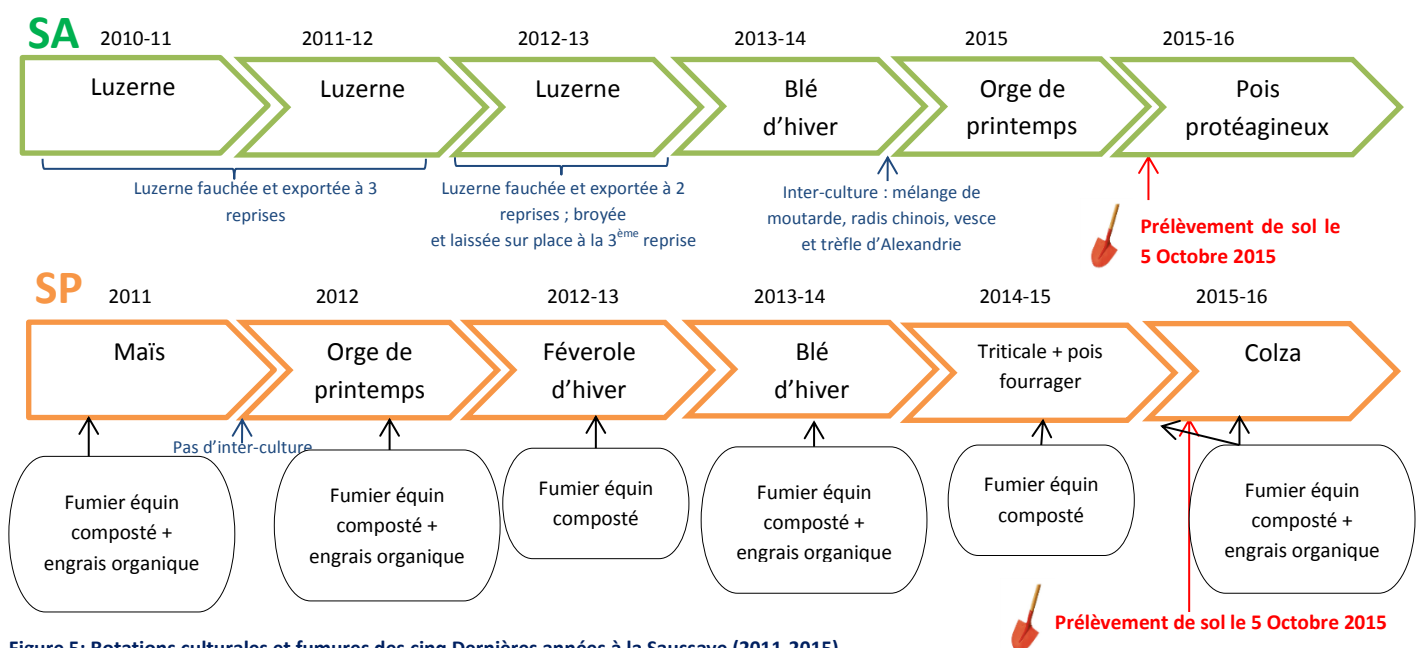


Figure 5: Rotations culturales et fumures des cinq Dernières années à La Saussaye (2011-2015)

II.A-1-2-La Hourre

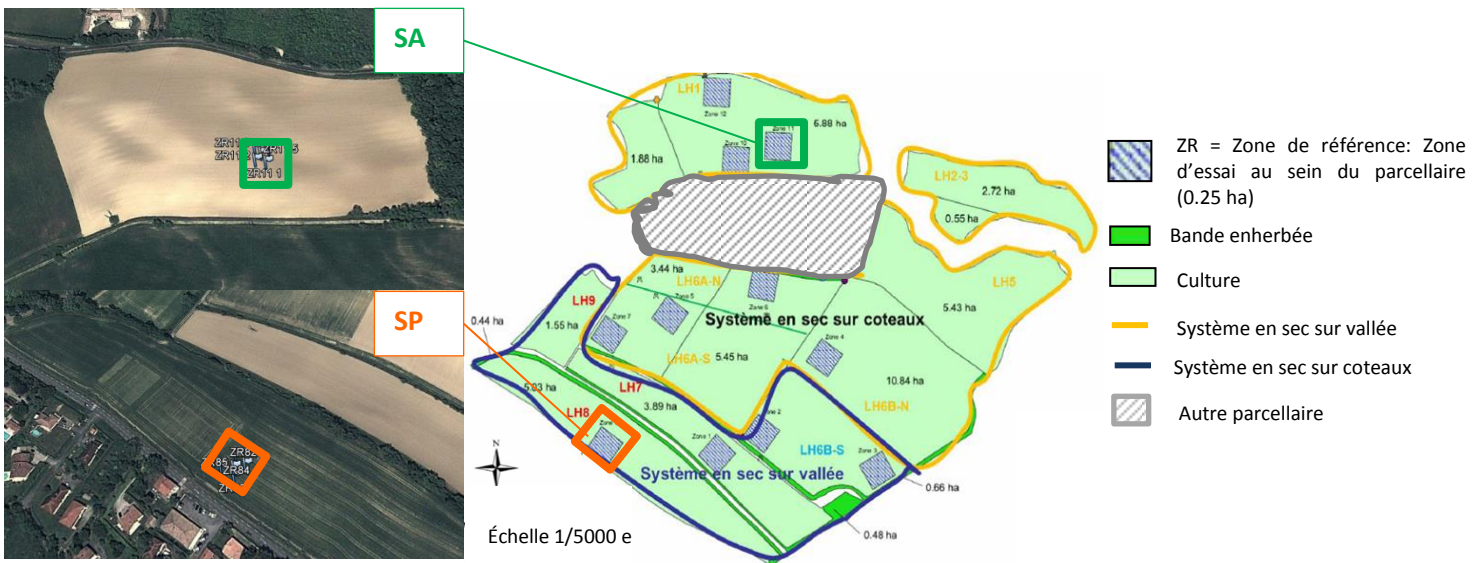


Figure 6: Localisation des 2 zones de références étudiées (ZR 8 et ZR 11) au sein du site de La Hourre (adapté depuis schéma fiche rotAB de ITAB 2016)

Les systèmes testés sont implantés sur deux zones de référence (ZR) (Figure 6):

-Le '**Système Autonome**' (SA) implanté sur la ZR 11 est situé en zone de coteaux : les apports de fertilisants organiques sont limités. Les rotations culturales sont diversifiées. La culture avant prélèvement des sols pour ce projet était un tournesol qui avait été semé puis détruit faute de levée suffisante, le sol est alors resté nu (Figure 7).

-Le '**Système Productif**' (SP) implanté sur la ZR 8 est situé en zone de vallée : les apports de fertilisants organiques sont plus importants. Les rotations culturales sont faiblement diversifiées, le soja étant la culture qui assure la réussite économique du site. La culture avant prélèvement des sols pour ce projet était une féverole d'hiver suivie d'une inter-culture mélangeant vesce et moutarde (Figure 7). Un labour est réalisé systématiquement avant l'implantation des cultures d'été.

Entre les deux systèmes, il existe un facteur 3 dans les apports moyens annuels de P : les fumures réalisées sont décrites en Figure 7 et en Annexe 3. Ces deux systèmes sont conduits en sec. Les caractéristiques physico-chimiques de ces sols de textures argilo-limoneuse (ZR11) et limono-argileuse (ZR8) sont données en annexe 4, et montrent que la teneur en argile est plus élevée en SA, et que la différence en P Olsen est quasi-nulle entre SA et SP (0.023 gP₂O₅/Kg en Autonome et 0.024 gP₂O₅/Kg en Productif).

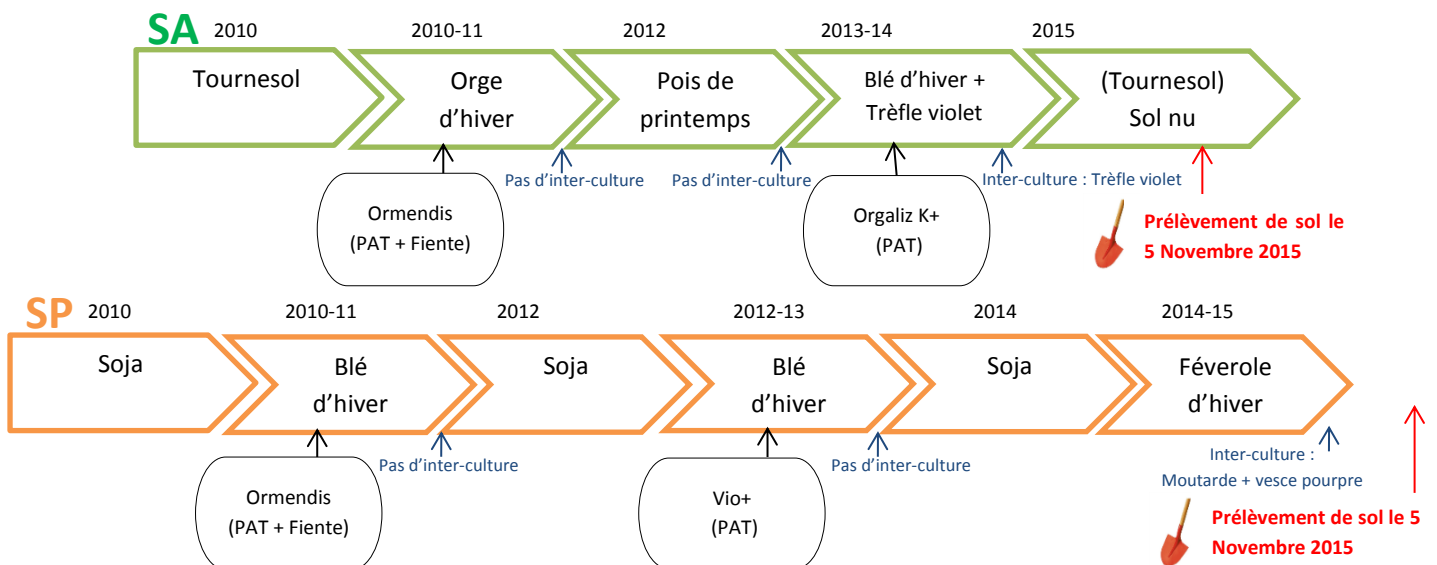


Figure 7: Rotations culturales et fumures des cinq dernières années à La Hourre (2010-2015)

II.A-1-3-Dunière

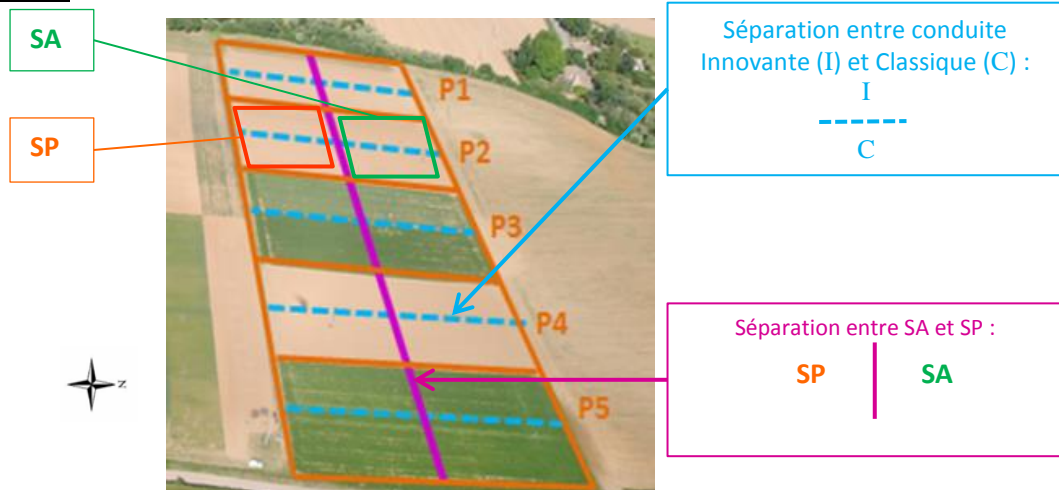


Figure 8 : Plan de l'essai de Dunière et localisation

Le dispositif comprend 5 parcelles, nous avons travaillé sur la parcelle P2 (Figure 8).

A l'origine (2000) le dispositif a été séparé en deux afin de comparer une conduite 'Classique' et une conduite 'Innovante'. Cette distinction était l'élément principal de l'essai et concernait le désherbage avec une différenciation surtout dans le machinisme appliqué (semis mono vs semis combiné, herse alternative vs herse étrille, bineuse ou non). Au fil du temps tout s'est quasiment homogénéisé. L'analyse de l'historique de l'essai montre que la différenciation portait sur les formes de fertilisants organiques apportés, la proportion de légumineuses et la présence d'associations céréales/légumineuses et l'utilisation de stimulant de croissance dans la partie 'Innovant'.

En 2006, la parcelle a été divisée perpendiculairement, la moitié sud recevant un apport systématique de fertilisants organiques ce qui correspond au '**Système Productif**' (SP), la moitié nord n'en recevant pas (ou peu), ce qui correspond au '**Système Autonome**' (SA) ; les formes de fertilisants diffèrent. Les rotations culturales sont les mêmes pour les deux systèmes avec la présence d'une espèce non mycotrophe (Colza) (Figure 9). Un labour est réalisé chaque année. Les rotations culturales et les fumures des deux systèmes sont décrites en Figure 9. Entre les deux systèmes, il existe un facteur 30 dans les apports moyens annuels de P (Annexe 3). Ces deux systèmes sont irrigués. Les caractéristiques physico-chimiques de ces sols limoneux sont données en annexe 4, et montrent que les valeurs de P Olsen sont difficilement comparables en SA et SP, seule le SP en conduite Classique semble dénoter avec P Olsen très faible (0.009 gP₂O₅/Kg). Au sein de SA et SP, les sols en conduite Innovante ont un pH plus élevé et moins de P Olsen qu'en conduite Classique.

SA & SP

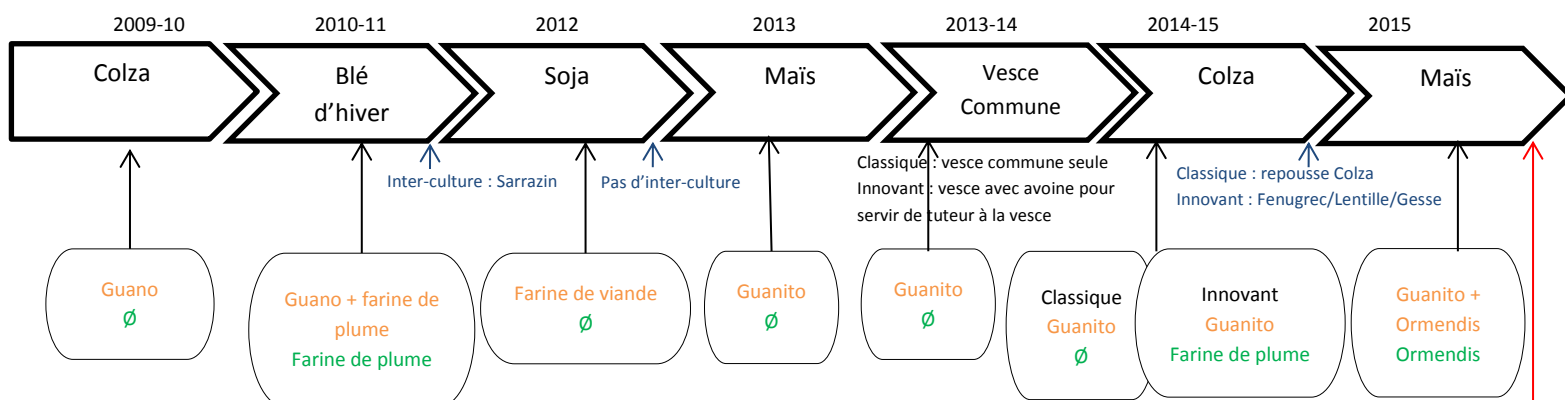


Figure 9 : Rotations culturales et fumures des cinq dernières années à Dunière (2010-2015)

II.A-2-DISPOSITIFS EN SERRE

La serre a été paramétrée de manière à simuler des conditions de température moyennes de début mars pour Auzeville, soit 20°C le jour et 17°C la nuit. La régulation a été assurée par des ouvrants et ombrières grâce à 2 mouchards de température. La luminosité n'a pas été régulée (car la rampe de lumière est tombée en panne), l'éclairage était donc la lumière naturelle venant de l'extérieur. L'irrigation a été assurée manuellement avec de l'eau permutée.

Pour chaque site, les sols des horizons 0-15 cm ont été prélevés à la pelle au champ fin 2015, séchés en serre sur table après émiettage des mottes, puis tamisés à 5 mm à la bétonnière. Les macro-résidus (tiges et pailles) ont été éliminés et ces sols ont été mis en pot et disposés en serre. La caractérisation physico-chimique des sols a été réalisée par le laboratoire d'analyse des sols de l'INRA à ARRAS (<http://www6.npc.inra.fr/las>) sur les sols séchés à l'air et tamisés à 2 mm. L'extraction du P disponible pour la plante, c'est-à-dire du P facilement mobilisable de la phase solide vers la solution du sol, a été réalisée avec la méthode d'extraction Olsen (NF ISO 11263, Olsen *et al.*, 1954).

Lors de la mise en pot, les sols ont été mélangés avec 20% de billes de PPP (PolyProPylène copo 7011 L1). L'objectif de cet ajout était double : premièrement, pour permettre aux racines de se développer dans de bonnes conditions: le pois est sensible à tout obstacle d'enracinement et un sol poreux est favorable aux nodosités (renouvellement rapide de l'air à leur contact) (ITAB, 2016). Deuxièmement, pour assurer un démoulage plus aisé lors de la récolte. Le choix s'est tourné vers le PPP, sorte de billes plastiques, plutôt que vers du sable ou des gravillons, car il fallait une matière inerte. Cependant, l'ajout de PPP n'est référencé par aucune littérature.

Afin de s'assurer d'avoir assez de matériel d'étude 12 répétitions (12 pots) ont été faites pour chacun des **12 sols** du projet. Dans chacun des pots, 4 graines de pois ont été plantées : cet ensemble constitue un individu statistique (Figure 10.A, B et C). Le pois est utilisé en tant que plante piège. Les semis ont été faits le 25 Janvier 2016. La variété de pois qui a été choisie est "Audit" ; selon le CREAB, il s'agit de la variété de printemps la plus adaptée aux conditions pédoclimatiques du sud-ouest de la France pour une conduite en AB. De plus, le pois est une légumineuse donc il possède la capacité d'auto-satisfaire ses besoins en azote : le facteur d'alimentation azotée est alors considéré comme neutre dans notre expérimentation. Enfin, chaque pot a été identifié par une lettre, mis en pochette plastique, et répartis sur 6 tables (Figure 10.D, et Annexe 5) ; la pochette plastique permet d'avoir un effet serre afin de favoriser la germination au départ, puis ensuite maîtriser l'irrigation en limitant l'évaporation.

In fine, vu le temps de travail nécessaire, 6 répétitions de chacun des sols ont été retenues de la manière suivante : 1 pot de chaque modalité pris sur chacune des 6 tables de la serre afin de s'affranchir d'un effet potentiel de micro-climat en serre.

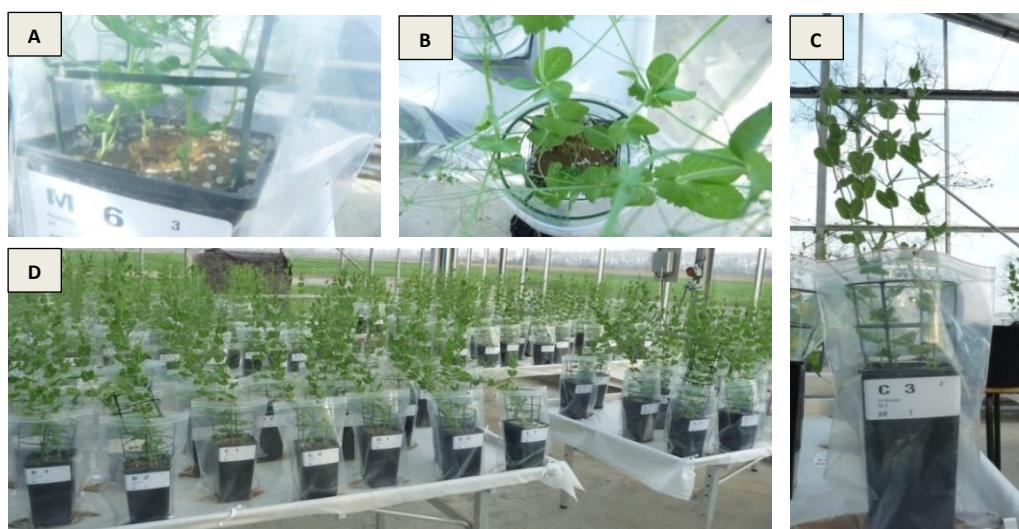


Figure 10 : Photos des plantations de pois en serre : Les quatre graines de pois plantées par pot vue de côté (A), les quatre graines de pois plantées par pot vue de dessus (B), vue d'ensemble d'un pot (C), et dispositif en serre (D).

II.B- PRELEVEMENTS ET ANALYSES DES PLANTES

II.B-1-Destruction des pots et prélèvements des échantillons d'étude

La récolte des pois s'est déroulée du 14 au 17 Mars, soit après 8 semaines de culture. La date a été choisie avant la floraison afin de ne pas avoir de modification dans l'allocation des ressources vers les graines. Cette date a permis également de conduire la culture jusqu'aux premiers stades de sénescence et d'avoir ainsi des pois qui ont puisé au maximum dans les réserves des sols, notamment les réserves en P.

Pour chaque pot, la partie aérienne des 4 pois a été coupée sous le résidu de la graine à ras du sol, mise dans une pochette Kraft pour passer à l'étuve (60°C, 48h) afin de déterminer son poids sec, puis de doser sa teneur en N et P. La partie racinaire a été extraite du sol par lavage à l'eau à l'aide d'une douchette, lavée dans plusieurs bains d'eau et essuyée entre deux feuilles de papier absorbant. Puis elle a été découpée en 2/3-1/3 (Figure 11.A et B). Les 2/3 inférieurs ont été découpés en 5 fractions au sein desquelles ont été prélevées aléatoirement deux aliquotes de racine. L'une, destinée aux comptages des arbuscules et aux observations de la colonisation mycorhizienne du cortex racinaire, a été mise dans un pilulier et conservée au congélateur à -20°C. L'autre, destinée à des analyses génétiques (extraction d'ADN pour identification des espèces de CMA, et d'ARN pour l'étude des transporteurs P), a été mise dans une papillote d'aluminium, puis plongée dans de l'azote liquide à -196°C avant d'être conservée par congélation à -80°C. Rien n'a été prélevé dans les deux zones du système racinaire où la mycorhization est généralement absente. Il s'agit du 1/3 supérieur, correspondant au pivot principal et aux racines les plus âgées, et de l'apex racinaire, correspondant à la zone méristématique de division cellulaire. Ainsi, les deux aliquotes prélevées ne contiennent que des racines fines ($\varnothing \approx 2\text{mm}$), c'est-à-dire celles qui sont encore supposées avoir comme fonction principale l'absorption (Cornelissen *et al.*, 2003). Ce 1/3 supérieur et les restes des 2/3 inférieurs ont été congelés à -20°C, puis mis en pochette Kraft pour passer à l'étuve (80°C, 48h) pour ensuite déterminer leurs poids secs et effectuer les dosages de la teneur N et P. Le système racinaire entier et les deux aliquotes ont été également pesés en frais. Le protocole est expliqué en détails et illustré en Annexe 6.

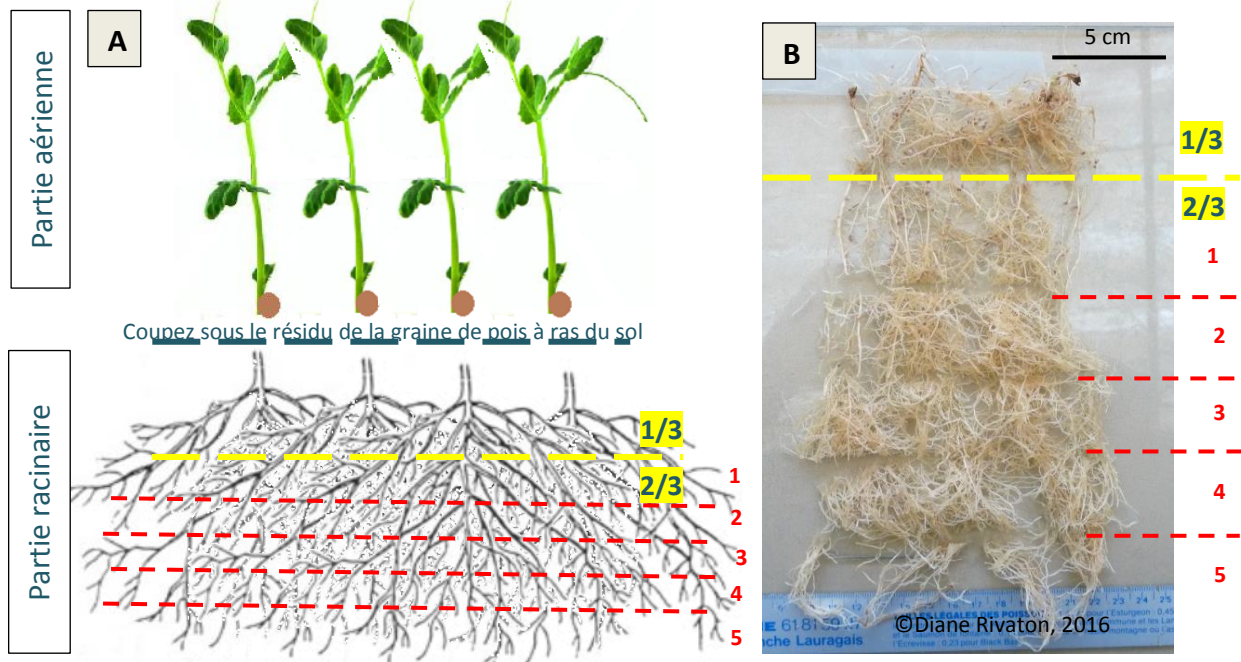


Figure 11: Vues schématique (A) et réelle (B) du protocole de découpage du système racinaire

II.B-2- PREPARATION DES RACINES POUR L'OBSERVATION DES MYCORHIZES

Afin de mesurer l'intensité de la mycorhization et de permettre le comptage des arbuscules, les racines de pois ont été colorées. Les aliquotes de racines prélevées précédemment ont été décongelées (Figure

12.A). Pour chaque échantillon, le contenu du pilulier a été versé dans une boîte de pétri (Figure 12.B) et coupé en fragments d'environ 2 cm (Figure 12.C). Trente fragments (au minimum) ont été prélevés aléatoirement et disposés dans une caissette perforée (Figure 12.D). La caissette est alors traitée selon un protocole de coloration (Vierheilig *et al.*, 1998, et Annexe 7) faisant intervenir des bains successifs (Figure 12.E). Dans un premier temps, les racines ont été plongées dans une solution d'hydroxyde de potassium (KOH à 10% m/v, bain-marie 90°C, 10 min) afin de décolorer les tissus en vidant les cellules de leur contenu et de ne laisser que les parois celluliques. Dans un second temps, afin de colorer les mycorhizes, les racines ont été plongées dans une solution de coloration acidifiée (5% d'acide acétique v/v et 5% d'encre noire Shaeffer, bain-marie 90°C, 10 min). Enfin, les racines ont été laissées pendant 24h dans une solution acidifiée (acide acétique 2% v/v) pour décolorer les tissus racinaires. Ainsi, seules les parois des champignons mycorhiziens retiennent le colorant grâce à leurs composés chitineux. Des bains de rinçage dans de l'eau distillée ont été faits après chacune des trois solutions de traitement. Une fois la coloration terminée (Figure 12. F), les fragments de racines ont été montés entre lame et lamelle (Figure 12.G et H).

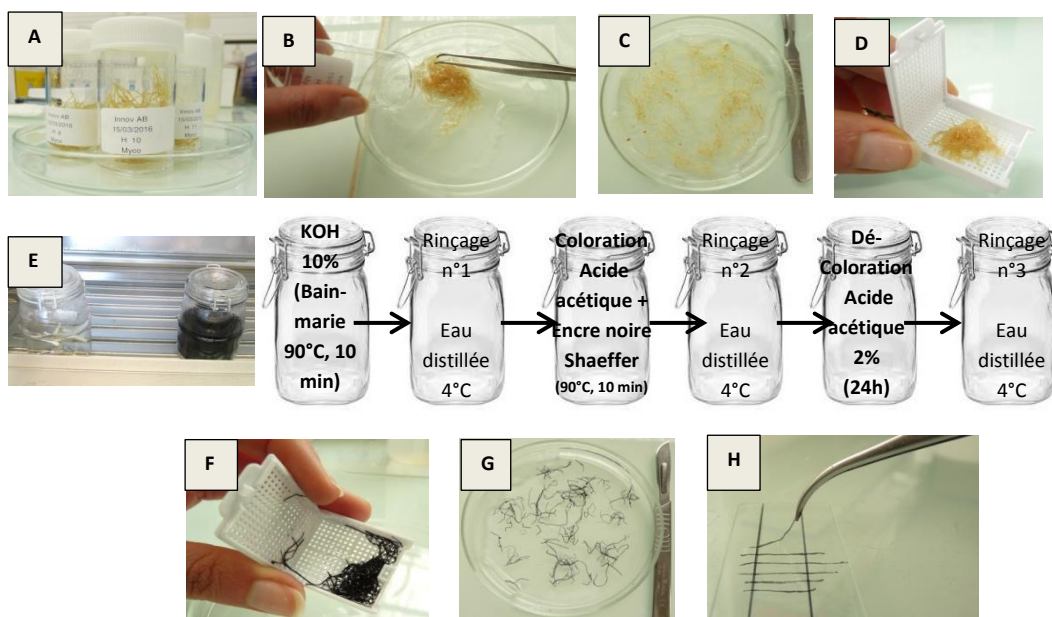


Figure 12: Protocole de coloration des racines de pois mettant en évidence la mycorhization par les CMA, illustrations par photos ©Diane Rivaton, 2016.

II.B-3-OBSERVATION DE LA COLONISATION MYCORHIZIENNE ET COMPTAGE DES ARBUSCULES

II.B-3-1-Colonisation mycorhizienne

La colonisation des racines par les CMA a été mesurée à l'aide d'une méthode adaptée de Trouvelot *et al.* (1986) permettant d'estimer la proportion de cortex racinaire qui est mycorhizé, et de prendre en compte l'ensemble des structures des CMA (hyphes, arbuscules, vésicules). Pour chaque échantillon, soit chacune des 6 répétitions d'un sol étudié, 3 lames de 10 fragments racinaires colorés ont été observées, ce qui fait un total de 30 fragments par échantillon. Sur chaque lame, 2 traits distants de 1 cm ont été tracés à l'aide d'un marqueur ; les 10 fragments sont placés perpendiculairement à ces deux lignes. Pour l'observation de la colonisation, la lame a été recouverte d'une lamelle. Le niveau de colonisation a été noté, pour chaque fragment d'un cm, à partir de la grille proposée par Trouvelot *et al.* (1986) et présentée dans la Figure 13.

L'observation a été faite sous loupe binoculaire (X 20) pour avoir la vue d'ensemble du fragment racinaire et pouvoir estimer de manière correcte la proportion de cortex mycorhizé.

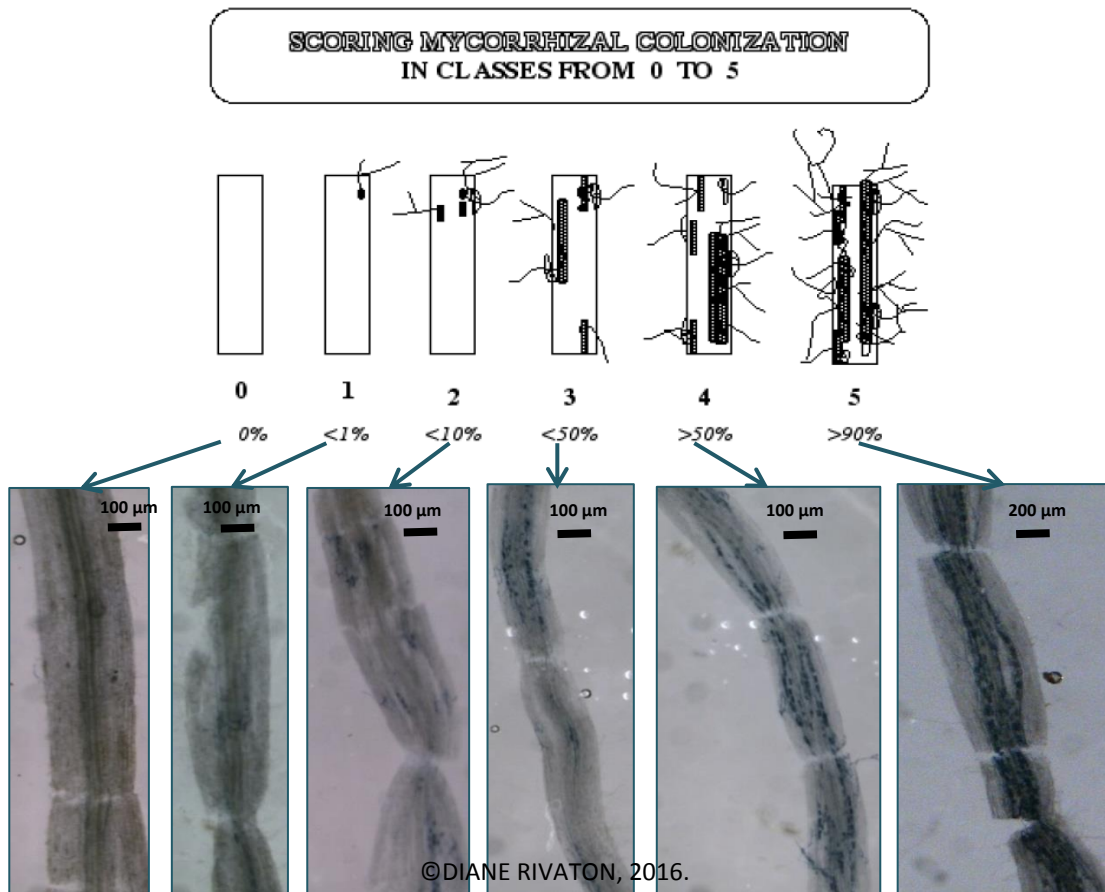


Figure 13 : Classification des différents niveaux de colonisation mycorrhizienne du cortex racinaire d'après Trouvelot et al., 1986

A partir du comptage, nous avons calculé le paramètre M% (ou Myco) qui donne l'intensité de la colonisation mycorrhizienne du cortex racinaire (proportion du cortex colonisé estimée et exprimée en %) à partir de la relation suivante : $M\% = Myco = (95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1) / Nb \text{ total} = (95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1) / 30$; avec n_5 =nombre de fragments notés 5, n_4 =nombre de fragments notés 4, etc. ; elle reflète l'importance de la colonisation du système racinaire.

II.B-3-2-Le nombre d'arbuscules

Afin d'avoir une vision plus précise du **fonctionnement** des CMA, nous avons compté le nombre d'arbuscules sur les mêmes lames qui ont servi à estimer la proportion de cortex mycorrhizé. Cette observation a été réalisée sous microscope optique (X 100) (Figure 14). A partir des comptages, le nombre moyen d'arbuscules par centimètre de racine (A ou Arb) a été calculé à partir de la relation suivante : $A = Arb = \text{Nombre total d'arbuscules} / \text{Nombre total de fragments} = \text{Nombre total d'arbuscules} / 30$.



Figure 14 : Portion de cortex racinaire mycorrhizé (microscope optique X 100) et Arbuscules (microscope optique X 400)

II.B-4-COMPTAGE ET CARACTERISATION DES SPORES DE CMA DANS LES SOLS INITIAUX

Les spores, qui sont un inoculum, ont été extraites et comptées dans les 12 sols étudiés. Pour chaque sol, un échantillon moyen de 40g a été prélevé. Les spores ont été séparées des particules de sols selon une méthode de tamisage par voie humide, adaptée de Gerdemann et Nicholson (1963). Le sol, dispersé dans 1L d'eau, a été versé sur le haut d'une série de tamis superposés de bas en haut selon la valeur grandissante de leur ouverture de maille (45µm, 180µm, et 630µm). La suspension de sol a suivie plusieurs dilutions et temps de décantation avant d'être à nouveau tamisée plusieurs fois (Annexe 8). Chaque fraction retenue dans les tamis 180µm et 45 µm a été récupérée dans une boîte de Pétri et observée à la loupe binoculaire (X 50) afin de compter le nombre de spores. Dans un deuxième temps, les spores ont été triées sur la base de leur forme, de leur texture et de leur couleur afin d'identifier les différents morphotypes présents, et de là, avoir une idée de la diversité de CMA présente (Figure 15). Pour ce faire, nous nous sommes aidés des spécimens-types référencés sur le site INVAM [International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi] (<http://invam.wvu.edu/the-fungi/species-descriptions>).

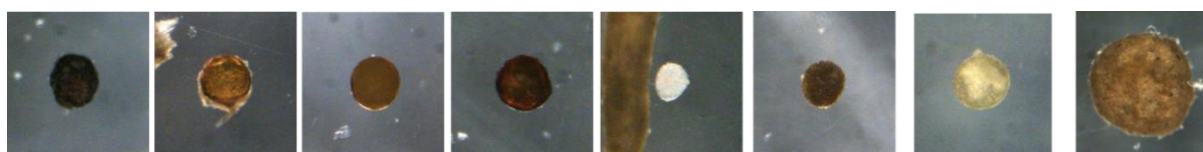


Figure 15 : Diversité de morphotypes de spores récoltées sur le tamis 180µm, issues du sol limono argileux profond de la Saussaye en système Productif, photos ©Diane Rivaton, 2016

II.B-5-ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

II.B-5-1- Biomasse aérienne et racinaire, et dosages physico-chimiques

Après un passage à l'étuve (60°C, 48h), la biomasse aérienne a été pesée puis broyée (broyage 1mm). De même, le système racinaire conservé à -20°C a également été séché à l'étuve (80°C, 48h), pesé puis broyé (broyage 1mm). La teneur en P de la poudre fine ainsi obtenue a été mesurée par la méthode de colorimétrie au vert de malachite (Petibon *et al.*, 2000).

Par ailleurs, afin de vérifier que la nutrition N des plantes était bien non limitante, nous avons mesuré la teneur en azote de la plante par un analyseur élémentaire (Vario EL Cube).

II.C-DEMARCHES STATISTIQUES

II.C-1-VARIABLES UTILISEES DANS LES ANALYSE STATISTIQUES

Variabes des Systèmes d'Etude :

Lieu	Saussaye, Hourre, Dunière
Systeme	Autonome, Productif
Autres_modalites	Type de sol pour la Saussaye (S1:Limono argileux profond, S2:Argileux à tendance hydromorphe, S3:Argilo limoneux superficiel à tendance hydromorphe); Conduite de culture pour Dunière (Classique, Innovante)

Variabes des Sols :

Argile	Argile (g/Kg)
Limons.Fins	Limons fins (g/Kg)
Limons.Grossiers	Limons grossiers (g/Kg)
Sables.Fins	Sables fins (g/Kg)
Sables.Grossiers	Sables grossiers (g/Kg)
C/N	Rapport C/N
MO	Matière organique (g/Kg)
CEC	Capacité d'Echange Cationique (cmol+/Kg)
pH	pH eau du sol
N	Teneur en N du sol (g/Kg)
P.Mineral	Phosphore minéral du sol (g/Kg)
P.Olsen_2016	Phosphore biodisponible (g P2O5/Kg)

Variables de la plante (Pois) :

Pds.Sec.Biom.Aerien	Poids sec de la partie aérienne (g)
Pds.Sec.Biom.Racines	Poids sec de la partie racinaire (g)
Pds.Sec.Tot.Plante	Poids sec total de la plante: Aérien+Racines (g)
Teneur.P.Aerien	Teneur en Phosphore de la partie aérienne (g P/Kg)
Teneur.P.Racines	Teneur en Phosphore de la partie racinaire (g P/Kg)
Teneur.P.Tot.Plante	Teneur en Phosphore de la plante: Aérien+Racine (g P/Kg)
Teneur.N.Aerien	Teneur en Azote de la partie aérienne (g N/Kg)
Teneur.N.Racines	Teneur en Azote de la partie racinaire (g N/Kg)
Teneur.N.Tot.Plante	Teneur en Azote de la plante: Aérien+Racine (g N/Kg)

Variables des Champignons Mycorhiziens Arbusculaires :

Arb	Nb moyen d'arbuscules dans le système racinaire (Nb/cm)
Myco	Intensité de la colonisation mycorhizienne du cortex racinaire=proportion du cortex colonisé(%)
Nb.Spores_180	Nombre de spores récoltées sur le tamis 180µm par gramme de sol (Nb/g de sol)
Nb.Spores_45	Nombre de spores récoltées sur le tamis 45µm par gramme de sol (Nb/g de sol)
Nb.Spores_Tot	Nombre de spores total (180µm+45µm) par gramme de sol (Nb/g de sol)
Nb.Morphotypes	Nombre de morphotypes observés dans 40g de sol (somme des morphotypes observés sur le tamis 180 µm + 45µm) (Nb)

II.C-2-DEMARCHE STATISTIQUE

Toutes les analyses décrites ci-après ont été réalisées à l'aide du logiciel R (version 3.2.4, <https://cran.r-project.org/>), R Studio (version 3.2.4, <https://www.rstudio.com/>) et Excel.

II.C-2-1-Impact des systèmes Autonome et Productif sur les CMA et la teneur en P de la culture

L'effet du système Autonome et Productif sur le taux de mycorhization, le nombre et la diversité de spores de CMA d'une part, puis sur la teneur en P de la culture de pois, a été analysé par des tests de comparaison classiques lorsque les variables suivaient une loi normale (t.test ; aov), et par des tests non paramétriques lorsque la loi normale n'était pas respectée (wilcox.test ; kruskal.test).

II.C-2-2-Etudes des relations entre CMA et P disponible dans le sol

Nous avons réalisé différents graphiques entre les variables de CMA (taux de mycorhization, nombre de spores) et la variable de P bio-disponible (P Olsen) afin de mettre en évidence une réponse des CMA au statut phosphaté des sols.

II.C-2-3-Description globale : les variables des systèmes qui impactent le potentiel mycorhizogène des sols

Une approche multivariée par la méthode PLS (Partial Least Squares regression) a été appliquée afin de caractériser de manière synthétique et visuelle les effets des systèmes Autonome et Productif. La PLS permet de mettre en lien une ou plusieurs variables à expliquer (ici les variables de CMA) avec un ensemble de variables explicatives (ici variables des sols et de plante), en nombre possiblement important, voire plus grand que le nombre d'observations. La PLS combine les avantages d'une part de l'Analyse en Composantes Principales (ACP) qui réduit la dimension en calculant un nombre restreint de variables latentes (c'est à dire les composantes principales : Comp 1, Comp 2,...) résumant l'information de nombreuses variables, et d'autre part de la régression qui permet d'écrire un modèle liant variable à expliquer et variables explicatives sur la base de leur covariation. L'ensemble permet de maximiser les covariances entre variables latentes. Les sorties graphiques permettent, à l'instar de celles d'une ACP, d'avoir une vision résumée cohérente des covariations des variables et des proximités des individus (Tenenhaus M., 1998). Les analyses ont été effectuées sous RStudio (version 3.2.4) à l'aide du package mixOmics (version 6.0.0).

III. RESULTATS

III.A-IMPACT DES SYSTEMES AUTONOME ET PRODUCTIF SUR LES CMA ET LA CULTURE

III.A-1-SITE DE LA SAUSSAYE

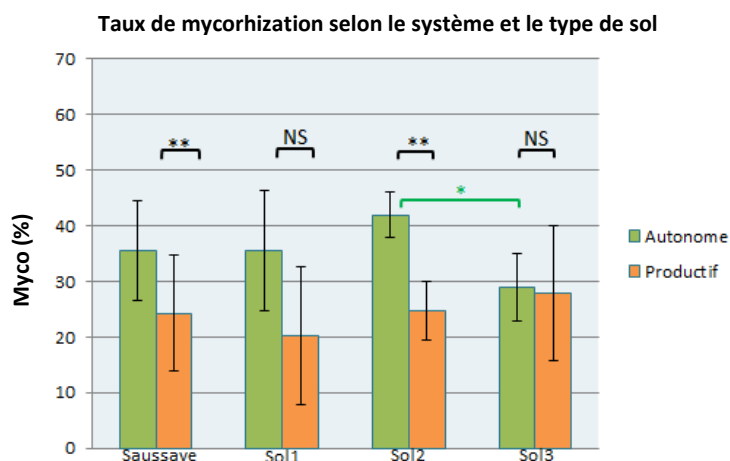


Figure 16: Effet du système (Autonome ou Productif) sur le taux de mycorhization; Tests statistiques (R), wilcox.test et kruskal.test, "*"= $p<0.05$; "***"= $p<0,01$; "NS"= Non significatif (En Noir).

Saussaye : Effet sol au sein de Sa et de SP: seuls sont reportés les différences significatives (VERT pour SA ; Orange pour SP). Moyennes±écart-types (n=6)

Il existe une différence significative entre le taux mycorhization et le nombre d'arbuscules de SA et SP ($p<0.01$). Les valeurs de ces deux paramètres sont toujours plus élevées en SA. Mais nous remarquons que cette différence à l'échelle du site, est portée par le sol2 (Mycorhization : SA=41.9%±4.1 vs SP=24.7%±5.3 ; $p=0.002$, Figure 16 ; Arb : SA=133.6±19.2 vs SP=85.5±22.7 ; $p=0.004$, Annexe 9). De plus, en SA, le sol 2 a permis la mise en place d'un taux de mycorhization et d'un nombre d'arbuscules plus importante que le sol 3 (Mycorhization : sol2=41.9%±4.1 vs sol3=28.9%±6.1 ; $p=0.0013$, Figure 16 ; Arb : sol2=133.6±19.2 vs sol3=93.6±18.8 ; $p=0.0013$; Annexe 9).

	Echelle site		SA vs SP au sein de chaque type de sol			Effet type de sol au sein de chaque système SA et SP		
	Saussaye	Sol 1: limono argileux profond			Sol 2: argileux à tendance hydromorphe		Sol 3: argilo limoneux superficiel à tendance hydromorphe	
		Sa vs SP	SA vs SP	SA vs SP	SA vs SP	SA: sol1 vs sol 2 vs sol 3	SP: sol1 vs sol 2 vs sol 3	
Teneur.P.Aerien	NS	NS	NS	** , SP>SA	NS	NS		
Teneur.P.Racines	NS	NS	NS	** , SP>SA	NS	NS		
Teneur.P.Tot.Plante	NS	NS	NS	** , SP>SA	* , sol3<sol1	NS		
Pds.Sec.Biom.Aerien	NS	NS	NS	* , SP>SA	NS	NS		
Pds.Sec.Biom.Racines	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
Pds.Sec.Tot.Plante	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
Teneur.N.Aerien	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
Teneur.N.Racines	NS	** , SA>SP	NS	* , SP>SA	NS	** , sol3>sol1 et ** , sol3>sol2		
Teneur.N.Tot.Plante	NS	NS	NS	* , SP>SA	NS	** , sol3>sol1		

Tableau 3 : Synthèse des effets des systèmes SA et SP, à l'échelle du site et selon le type de sol, sur les teneurs en P, N et la biomasse des pois. Tests statistiques (R), wilcox.test et kruskal.test, "*"= $p<0.05$; "***" = $p<0,01$; "NS"= Non significatif

A l'échelle du site, la culture ne montre aucune différence de teneur en P (SA=2.47±0.33 vs SP=2.63±0.29 (g de P/Kg Tot.Plante), NS), ni de biomasse (SA=5.30±0.58 vs SP=5.18±0.47 (g Tot.Plante), NS), ni de teneur en N (SA=41.15±3.47 vs SP=41.13±4.13 (g de N/Kg Tot.Plante), NS) entre SA et SP (Tableau 3).

A l'échelle du type de sol, la culture issue du sol 3 présente une teneur en P de la partie aérienne, racinaire et de la plante entière, plus importante en SP qu'en SA (respectivement (en g de P/Kg) SA=1.85±0.14 vs SP=2.61±0.17, $p=0.002$; SA=2.23±0.24 vs SP=2.92±0.18, $p=0.005$; SA=2.15±0.21 vs SP=2.88±0.17, $p=0.005$, Annexe 10). De même, la biomasse aérienne est plus importante en SP ($p=0.0017$) (Annexe 11). La teneur en N de la plante (et des racines) est aussi supérieure en SP ($p=0.03$ (et $p=0.04$)). Sur le sol 1, une teneur en N des racines, supérieure en SA, est mise en évidence (Tableau 3 et Annexe 12).

Au sein du SA, comparativement au sol1, la culture du sol3 présente une valeur plus faible de teneur en P (2.15±0.21 vs 2.71±0.13 g de P/Kg, $p=0.013$). Au sein du SP, la culture du sol 3 présente une valeur plus élevée de teneur en N de la plante entière, en comparaison avec le sol1 ($p=0.0065$), et de teneur en N des racines en comparaison avec les sols 1 et 2 ($p=0.0065$ et 0.0087) (Tableau 3 et Annexe 12).

III.A-2-SITE DE LA HOURRE

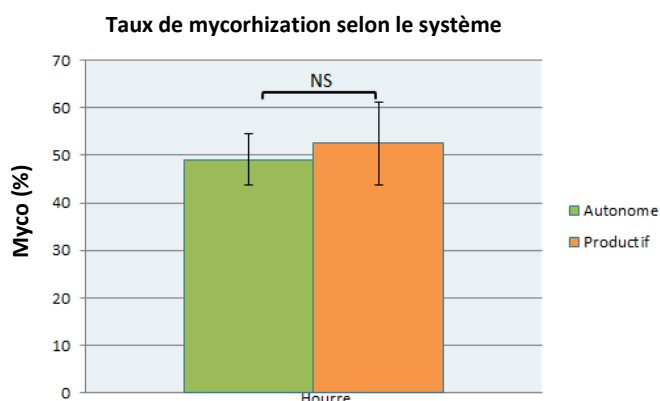


Figure 17 : Effet du système (Autonome ou Productif) sur le taux mycorhization; Tests statistiques (R), wilcox.test et kruskal.test, "*"= $p<0.05$; "***" = $p<0,01$; "NS"= Non significatif. Moyennes±écart-types (n=6)

Echelle site	
Hourre	
Sa vs SP	
Teneur.P.Aerien	*, SP>SA
Teneur.P.Racines	NS
Teneur.P.Tot.Plante	NS
Pds.Sec.Biom.Aerien	NS
Pds.Sec.Biom.Racines	NS
Pds.Sec.Tot.Plante	NS
Teneur.N.Aerien	NS
Teneur.N.Racines	*, SP>SA
Teneur.N.Tot.Plante	NS

Tableau 4 : Synthèse des effets des systèmes SA et SP, à l'échelle du site, sur les teneurs en P, N et la biomasse des pois. Tests statistiques (R), wilcox.test et kruskal.test, "*"= $p<0.05$; "NS"= Non significatif

Il n'y a pas de différence significative entre SA et SP en ce qui concerne le taux de mycorhization et le nombre d'arbuscules (Figure 17, Annexe 9). De même, les biomasses ne diffèrent pas. Entre SA et SP, il existe de faibles différences ($p<0.05$) dans les teneurs en P de la partie aérienne (SA=2.04±0.19 vs SP=2.50±0.20 (en g de P/kg)), et en N de la partie racinaire (SA=32.06±0.95 vs SP=34.53±1.80 (en g de N/Kg)) (Tableau 4 et Annexe 10 et 12).

III.A-3-SITE DE DUNIÈRE

Taux de mycorhization selon le système et la conduite de culture

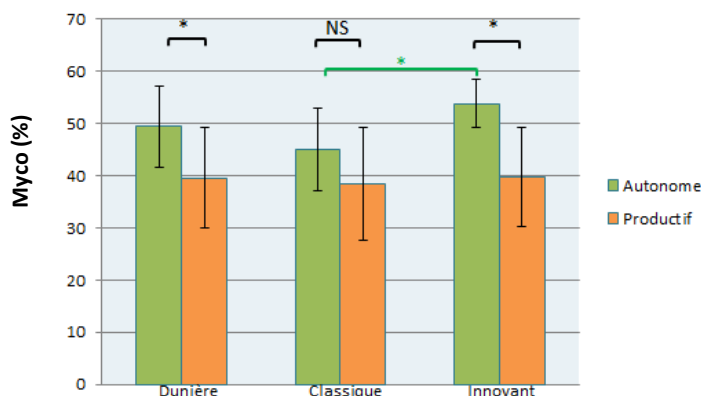


Figure 18 : Effet du système (Autonome ou Productif) sur le taux de mycorhization; Tests statistiques (R), wilcox.test et kruskal.test, "*"= $p<0.05$; "***" = $p<0,01$; "NS"= Non significatif (En Noir).

Dunière: effet conduite au Sein de SA et SP : seuls sont réportés les différences significatives (pour SA ; Pour SP). Moyennes±écart-types (n=6)

Il existe une différence significative entre le taux de mycorhization et le nombre d'arbuscules de SA et SP ($p<0.05$, Figure 18 et Annexe 9). Les valeurs de ces deux paramètres sont toujours plus élevées en SA. Mais nous remarquons que cette différence à l'échelle du site est portée par la conduite Innovante (Myco : SA=53.8%±4.6 vs SP=39.7%±9.4, $p=0.04$, Figure 18; Arb : SA=166.1±25.6 vs SP=115.2±31.6, $p=0.026$, Annexe 9). De plus, en SA, la conduite Innovante, se caractérise par un taux de mycorhization plus importants que la conduite Classique (Classique=45.0%±8.0 vs Innovant=53.8%±4.6, $p=0.04$, Figure 18 et Annexe 9).

A l'échelle du site, la partie aérienne de la culture a une teneur en P légèrement supérieure en SP (SA=1.92±0.42 vs SP=2.32±0.32 (g de P/Kg), $p=0.043$, Tableau 5 et Annexe 10).

Les biomasses sont similaires dans les deux systèmes (Tableau 5 et Annexe 11).

En conduite innovante, la culture présente une teneur en P de la plante plus importante en SP (SA=1.86±0.36 vs SP=2.61±0.21 (g de P/Kg), $p=0.004$). De même pour la teneur en N racinaire (SA=31.78±1.81 vs SP=35.09±2.45 (g de N/Kg), $p=0.0152$).

Au sein du SA, la culture en conduite Classique présente une teneur en P de la plante qui est supérieure à celle en conduite Innovante (Classique=2.78±0.21 vs Innovant=1.86±0.36 (g de P/Kg), $p=0.002$). Il en est de même pour la teneur en N racinaire ($p=0.0152$, Annexe 12).

Echelle site	SA vs SP au sein de chaque conduite			Effet de la conduite au sein de chaque système SA et SP	
	Dunière	Classique	Innovante	SA: Classique vs Innovant	SP: classique vs innovant
	SA vs SP	SA vs SP	SA vs SP	SA: Classique vs Innovant	SP: classique vs innovant
Teneur.P.Aerien	*, SP>SA	NS	** , SP>SA	** , classique>innovant	NS
Teneur.P.Racines	NS	NS	*, SP>SA	** , classique>innovant	NS
Teneur.P.Tot.Plante	NS	NS	** , SP>SA	** , classique>innovant	NS
Pds.Sec.Biom.Aerien	NS	NS	NS	NS	NS
Pds.Sec.Biom.Racines	NS	NS	NS	NS	NS
Pds.Sec.Tot.Plante	NS	NS	NS	NS	NS
Teneur.N.Aerien	NS	NS	NS	NS	NS
Teneur.N.Racines	NS	NS	*, SP>SA	*, classique>innovant	NS
Teneur.N.Tot.Plante	NS	NS	NS	NS	NS

Tableau 5 : Synthèse des effets des systèmes SA et SP, à l'échelle du site et selon la conduite de culture, sur les teneurs en P, N et la biomasse des pois. Tests statistiques (R), wilcox.test et kruskal.test, "" = p<0.05 ; "***" = p<0,01 ; "NS" = Non significatif**

Remarque générale aux 3 sites d'étude : aucune relation entre le taux de mycorhization ou le nombre d'arbuscules et la teneur en N du sol ou la teneur en N des pois n'a pu être mise en évidence (Annexe 13).

III.A-4-RELATION ENTRE TAUX DE MYCORHIZATION ET NOMBRE D'ARBUSCULES

Lorsque nous mettons en relation le taux de mycorhization et le nombre d'arbuscules, nous observons une forte corrélation, d'où la similarité des résultats obtenus pour ces deux paramètres (Figure 19).

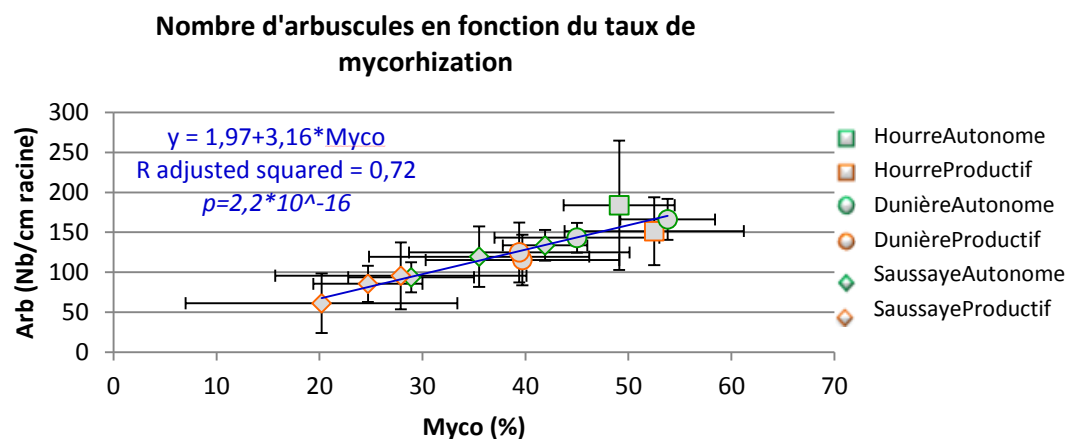


Figure 19 : Relation entre taux de mycorhization et nombre d'arbuscules. Moyennes ± écart-types (n=6)

III.A-5-SYSTEME AUTONOME ET PRODUCTIF, SPORES DE CMA ET BIODIVERSITE

Etant donné qu'il n'y a eu qu'une valeur de comptage pour chacun des 12 sols, seule la comparaison système Autonome vs Productif à l'échelle de tous les sites confondus a une réelle validité statistique puisqu'il existe alors six répétitions par système. Pour le reste, seule une analyse qualitative est possible (Tableau 6).

Lieu	Systeme	Autres_Modalites	Nb.Spores_180µm (/g sol)	Nb.Spores_45µm (/g sol)	Nb.Spores_Tot (/g sol)	Nb.Morphotypes (/40g sol)
Saussaye	Autonome	Sol1	1,0	13,3	14,3	9
Saussaye	Autonome	Sol2	0,6	16,6	17,2	9
Saussaye	Autonome	Sol3	0,6	8,0	8,6	8
Saussaye	Productif	Sol1	1,2	27,8	29,0	14
Saussaye	Productif	Sol2	1,4	48,5	50,0	11
Saussaye	Productif	Sol3	0,8	23,4	24,2	12
Hourre	Productif		0,7	29,5	30,2	10
Hourre	Autonome		0,9	28,2	29,1	9
Duniere	Productif	Innovant	0,8	45,1	45,8	10
Duniere	Autonome	Innovant	1,4	39,2	40,6	9
Duniere	Autonome	Classique	0,7	18,7	19,3	9
Duniere	Productif	Classique	1,1	19,6	20,6	9

Tableau 6 : Densité de spores de CMA et nombre de morphotypes relevés dans chacun des 12 sols

A l'échelle de l'ensemble des sites, le nombre de spores de CMA (SA=21.5±1.5 et SP=33.3±11.9 ; $p=0.04$) ainsi que le nombre de morphotypes (SA=8.8±0.4 et SP=11.0±1.8 ; $p=0.016$) sont plus élevés en SP qu'en SA (Annexe 14 et Figure 20). Toutefois, il faut noter que ce résultat général est en réalité influencé par un site en particulier, celui de la Saussaye (Annexe 15). En effet, à la Saussaye une différence marquée est observable entre SA et SP (SA=13.4±4.4 spores/g sol et 8.7±0.6 morphotypes vs SP=34.4±13.7 spores/g et 12.3±1.5 morphotype). Cependant, il n'existe pas de différence entre SA et SP à Dunière (SA=30.0±15.0 spores/g sol et 9.0±0.0 morphotypes ; et SP=33.2±17.8 spores/g sol et 9.5±0.7 morphotypes), et à la Hourre (SA=29.1 spores/g sol et 9 morphotypes; et SP=30.2 spores/g sol et 10 morphotypes) (Figure 20).

A la Saussaye, que se soit en SA ou SP, plus de spores ont été dénombrées dans le sol 2 (SA=17.2 et SP=50.0 spores/g sol) comparativement aux sol 1 (SA=14.3 et SP=29.0 spores/g sol) et sol 3 (SA=8.6 et SP=24.2 spores/g sol). A Dunière, que ce soit en système Autonome ou Productif, plus de spores ont été comptées en conduite Innovante (SA=40.6 et SP=45.8) par rapport à la conduite Classique (SA=19.3 et SP=20.6).

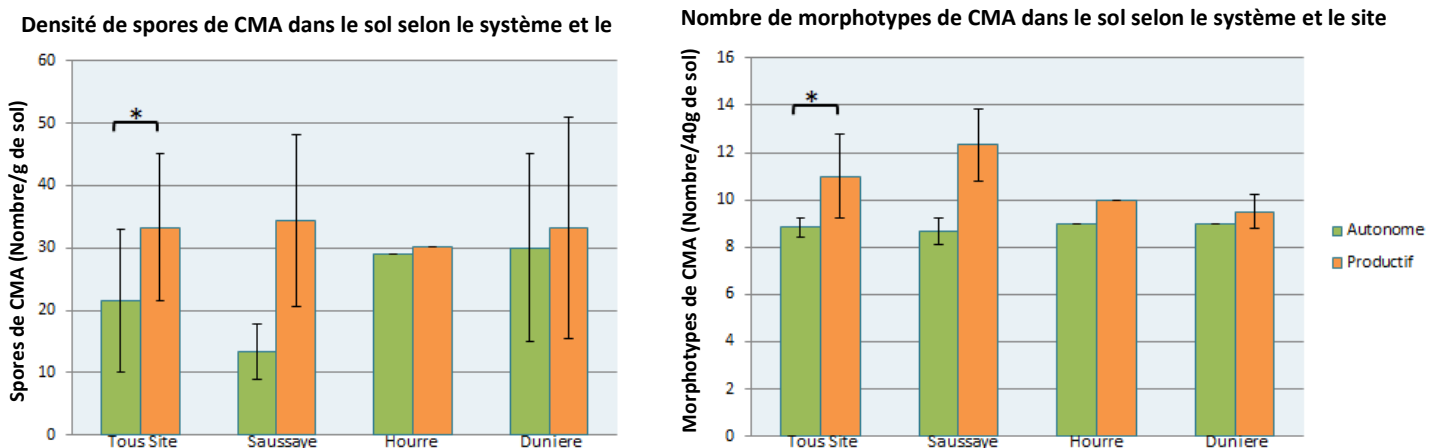


Figure 20 : Densité de spores de CMA et nombre de morphotypes selon le système Autonome vs Productif; 'Tests statistiques (R), Transformation 'Spores' par log puis t.test; 'Morphotypes' par wilcox.test ; "*" = $p < 0,05$

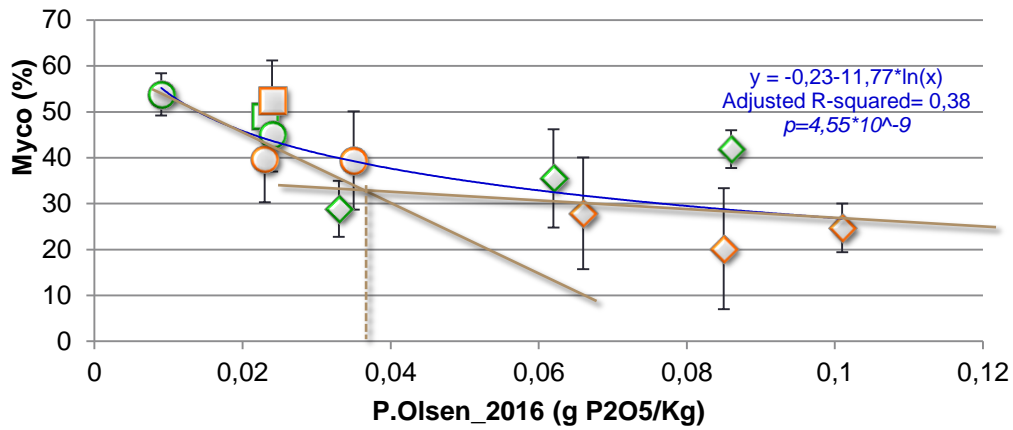
Par ailleurs, nous remarquons que quel que soit le système, les spores de petites tailles (tamis 45µm) sont présentes en plus grand nombre que les spores de grandes tailles (tamis 180µm) (respectivement, le ratio est de 23 pour tous les SA confondus et de 34 pour tous les SP confondus).

Remarque générale aux 3 sites d'étude : aucune relation entre le taux de mycorhization et la densité de spores de CMA n'a pu être mise en évidence (Annexe 16).

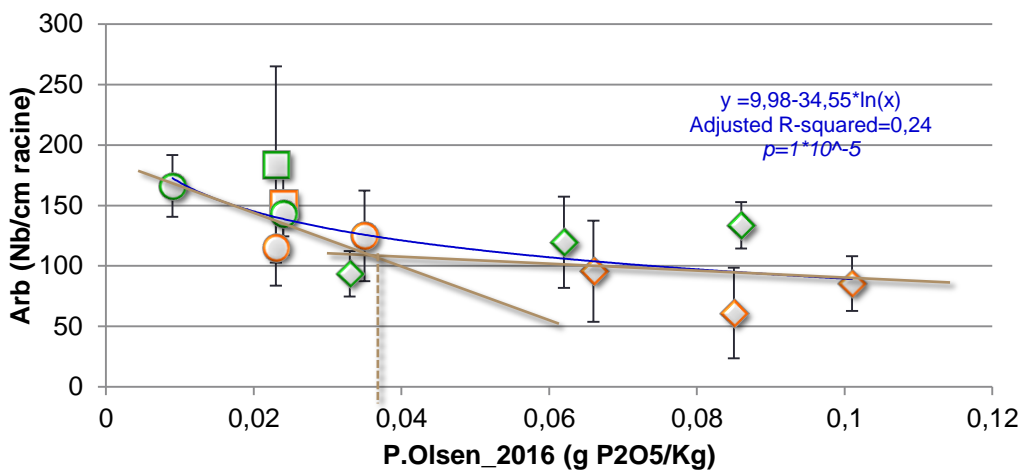
III.B-ÉTUDES DES RELATIONS ENTRE CMA ET P DISPONIBLE DANS LE SOL POUR LA CULTURE

Nos résultats montrent qu'il existe une relation négative, de forme semi-logarithmique, entre la teneur en P Olsen du sol et le taux de mycorhization, et entre le P Olsen et le nombre d'arbuscules (Figure 21.A et B). Pour des valeurs de P Olsen inférieures à 0.038 g P₂O₅/Kg_{sol}, plus la teneur en P disponible augmente plus le taux mycorhization et le nombre d'arbuscules diminuent. Au-delà de 0.038g P₂O₅/Kg_{sol}, le taux de mycorhization et le nombre d'arbuscules atteignent une valeur plateau respectivement de 25% et de 100 arb/cm. De plus, il existe une relation positive, de forme semi-logarithmique, entre le P Olsen et la teneur en P de la plante, et entre le P Olsen et la biomasse de la plante (Figure 21.C et D). Pour des valeurs de P Olsen inférieures à 0.038 g P₂O₅/Kg_{sol}, plus la teneur en P disponible augmente, plus la teneur en P et la biomasse des pois augmentent. Au-delà de 0.038g P₂O₅/Kg_{sol}, la teneur en P des pois stagne aux alentours de 2.7g/Kg et la biomasse aux environs de 5g. Enfin, nous observons deux dynamiques entre le P Olsen et la densité de spores (Figure 21.E): pour des valeurs de P Olsen inférieures à 0.040 g P₂O₅/Kg_{sol}, nous observons une relation de tendance négative ; pour des valeurs de P Olsen supérieures à 0.040 g P₂O₅/Kg_{sol}, nous observons une relation de tendance positive.

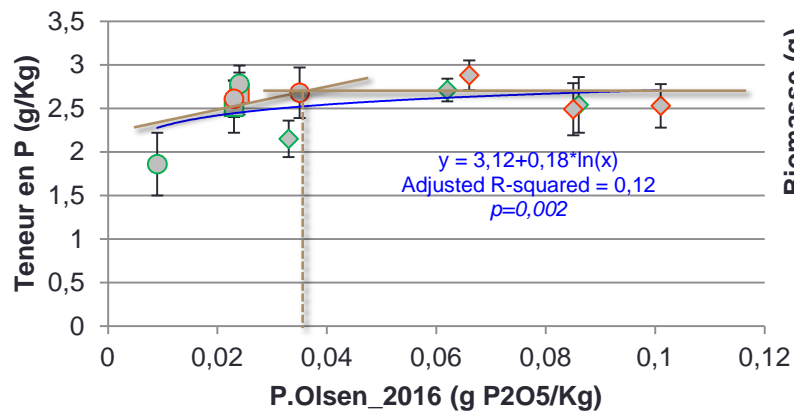
A. Mycorhization et P Olsen



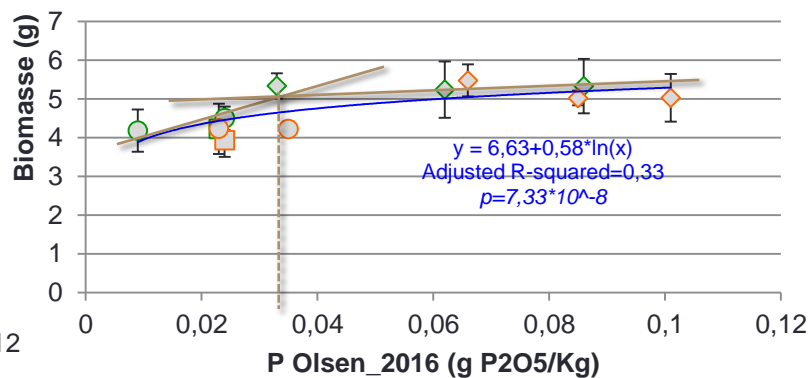
B. Nombre d'arbuscules et P Olsen



C. Teneur en Phosphate des pois et P Olsen



D. Biomasse des pois et P Olsen



E. Densité de de spores et P Olsen

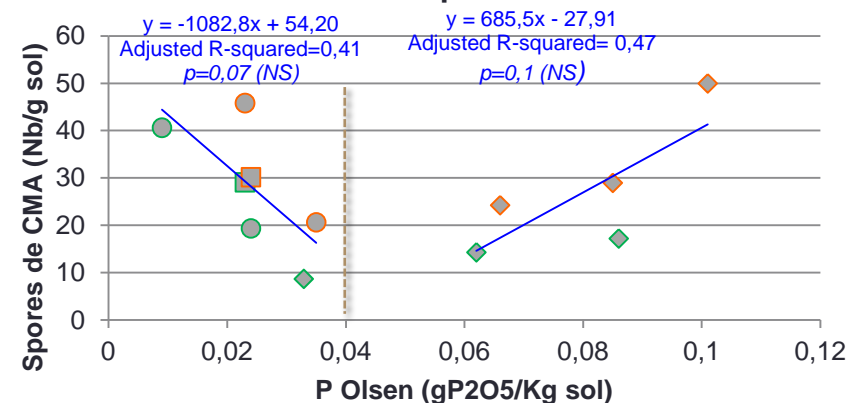



Figure 21 : Relation entre P Olsen et taux de mycorhization, nombre d'arbuscule, teneur en P, biomasse et densité de spores de CMA :

- A) Taux de mycorhization en fonction du P Olsen
- B) Nombre d'arbuscules en fonction du P Olsen
- C) Teneur en P en fonction du P Olsen
- D) Biomasse des pois en fonction du P Olsen
- E) Densité de spores de CMA en fonction du P Olsen

III.C-DESCRIPTION GLOBALE : LES VARIABLES DES SYSTEMES QUI IMPACTENT LE POTENTIEL MYCORHIZOGENE DES SOLS

Afin de pouvoir prendre du recul pour analyser de manière synthétique et visuelle les effets des systèmes Autonome et Productif sur les CMA (taux de mycorhization, nombre d'arbuscules, nombre de spores et morphotypes), une approche multivariée par la méthode PLS (Partial Least Squares regression) a été appliquée.

 **Clef de lecture des résultats PLS:** Les variables explicatives, c'est-à-dire, les variables de sols sont en marron, celles de plante sont en vert ; les variables d'intérêts à expliquer, c'est-à-dire, les variables de CMA, sont en rose. Les individus du SA sont en vert et ceux du SP sont en orange. L'interprétation s'effectue d'abord sur le graphe des variables. Seules les variables à l'extérieur du petit cercle de corrélations (de valeur 0.5) ont une réelle interprétation statistique. Pour interpréter, il faut projeter les variables sur les axes 1 et 2 (Component 1&2): plus la valeur de la projection d'une variable sur un axe est proche de 1, plus cette variable explique cet axe. Ainsi nous pouvons alors identifier les variables expliquant nos variables d'intérêts. Une fois que la signification des axes a été établie, il faut alors regarder le graphe des individus afin de les repositionner et d'expliquer leurs répartitions par rapport à ces axes.

Le test du Q2, permettant d'identifier le nombre d'axes à retenir, nous indique de ne considérer que les 2 premiers axes (Annexe 17). Les axes 1 et 2 permettent d'expliquer 61% des données initiales, ce qui est une bonne représentation.

III.C-1-GRAPHES DES VARIABLES

D'après la Figure 22, l'axe 1 permet d'expliquer le taux de mycorhization (Myc) et le nombre d'arbuscules (Arb). Plus les valeurs des indicateurs de fertilité du sol (P Olsen, C/N, MO, CEC, N) et plus la biomasse des pois (Pds.Sec.Tot.Aerien/Racines) sont importantes, plus le taux de mycorhization et le nombre d'arbuscules sont faibles ; et inversement. D'autre part, plus le sol a une texture sableuse et plus la teneur en azote des racines est élevée, plus le taux de mycorhization et le nombre d'arbuscules sont élevés ; et inversement.

L'axe 2 permet d'expliquer le nombre de spores de CMA. Plus un sol va avoir une texture sableuse et argileuse (Sables.Grossiers, Argile), et un pH élevé, ainsi que les valeurs des indicateurs de fertilité (P.Minéral, P.Organique, CEC, MO, N) élevées, plus le nombre de spores de CMA va être important ; et inversement. Par contre, un sol ayant une teneur élevée en limons grossiers semble défavorable à l'établissement de spores ; et inversement.

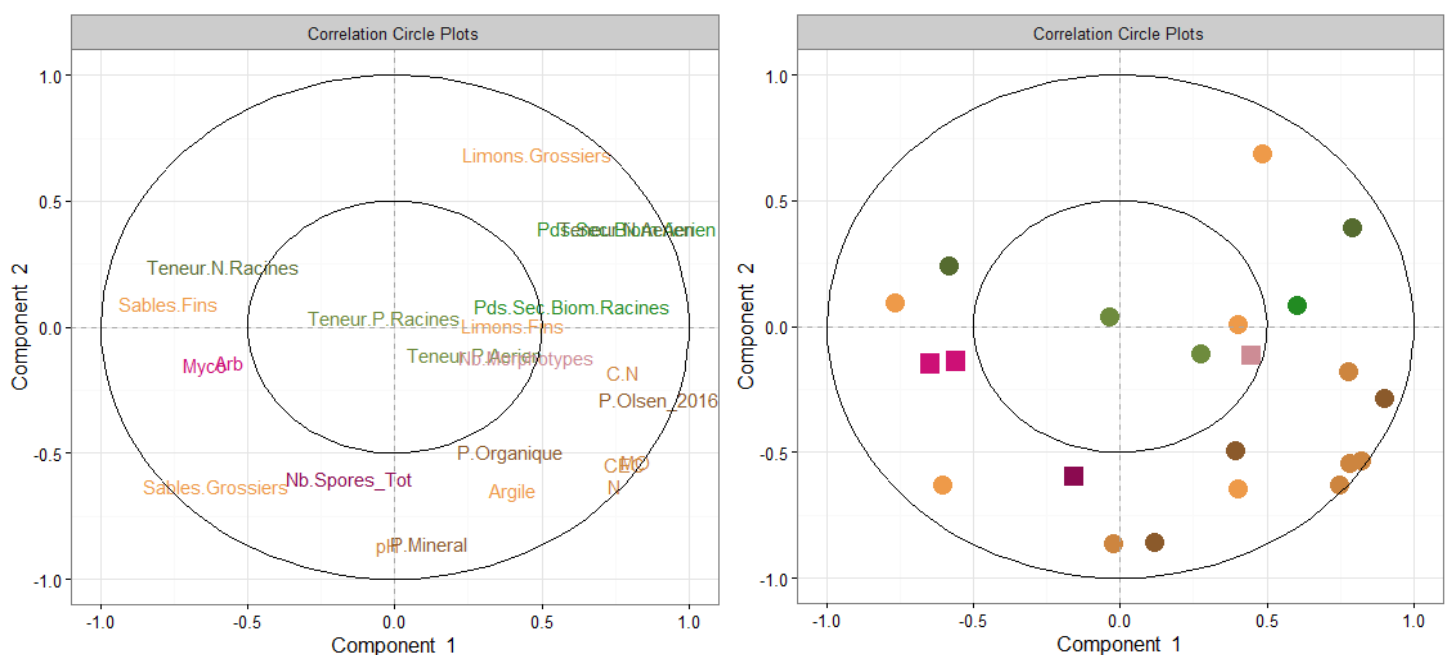


Figure 22 : Graphes des variables de la PLS, les deux graphes ci-dessus sont les mêmes : le premier est représenté avec les noms complets des variables, les deuxième seulement avec les points correspondants à l'emplacement des variables pour une meilleure lecture.

La variable de diversité des CMA, à savoir le nombre de morphotypes de spores n'est représenté par aucun des axes et n'est pas interprétable (à l'intérieur du cercle de corrélation 0.5 sur la figure 22). Ceci n'est pas surprenant vu le faible nombre de mesures obtenues par cette variable.

III.C-2-GRAPHES DES INDIVIDUS

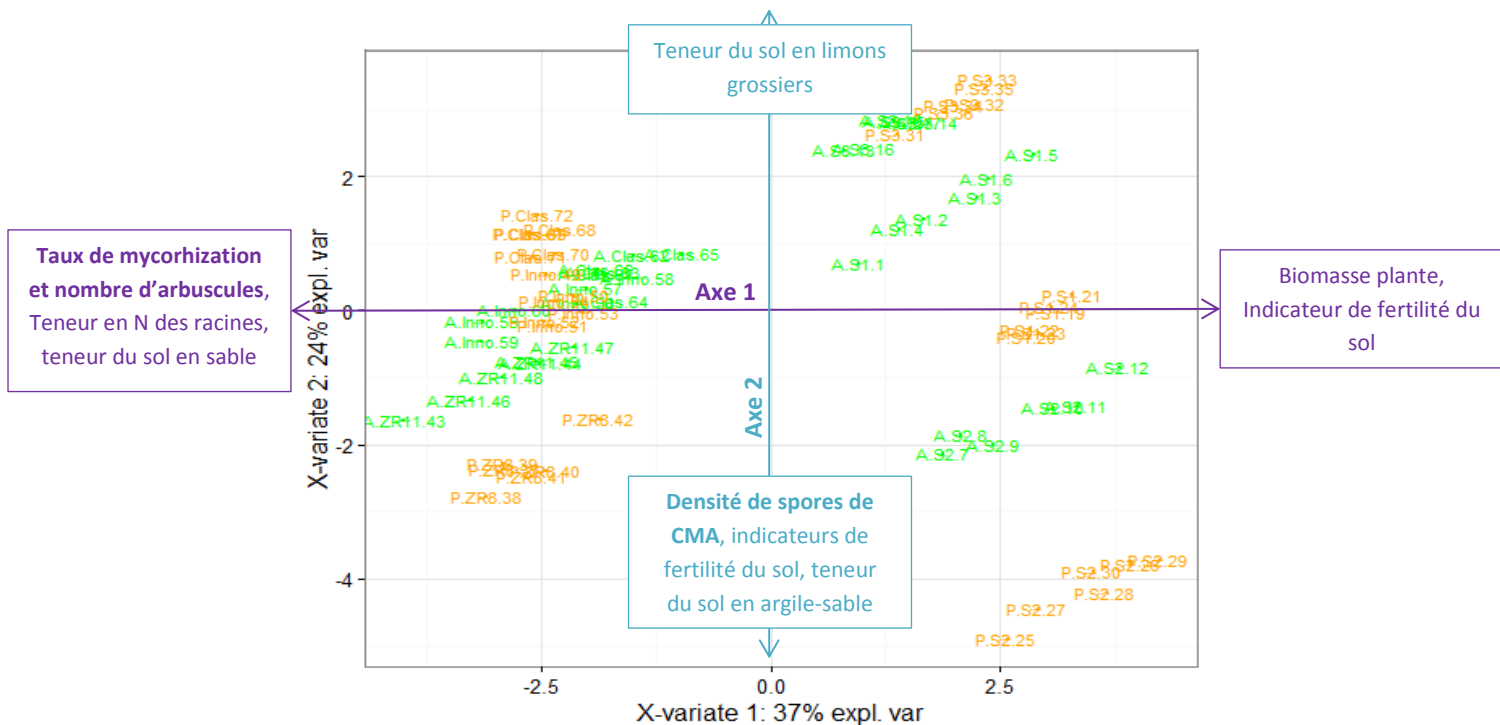



Figure 23 : Graphes des individus de la PLS, A=SA (vert) ; P=SP (orange) ; S1&S2&S3=Saussaye ; ZR11&ZR8=Hourre ; Class&Innov=Dunière

Selon la figure 23, l'axe 1 permet de distinguer les trois sites d'études : La Saussaye est caractérisé par de faibles taux de mycorhization et de nombre d'arbuscules, et de fortes valeurs de fertilité du sol (richesse en éléments nutritifs, dont P Olsen) et de biomasse. A l'inverse, Dunière et la Hourre sont caractérisés par un taux de mycorhization important et de faibles valeurs de fertilité de sols et de biomasse.

L'axe 2 permet de distinguer au sein de chacun des sites le système Autonome (SA) du système productif (SP) selon le nombre de spores, en général plus élevé en SP qu'en SA.

Afin d'analyser plus finement les résultats de la PLS, les cartes de corrélations "Heat-Map" ont été réalisées.

 **Clef de lecture des résultats Heat-Map:** Les variables à expliquer (celles des CMA) sont situées en abscisses, et les variables explicatives sont situées en ordonnée. La case à l'intersection de deux variables est définie par une couleur qu'il faut interpréter grâce à la clef de lecture 'Color key'. Cette clef de lecture est bornée par les valeurs de corrélation min et max (ex : ci-dessous, sur la figure 24, sur dim 1&2 : max=+0.57 et min=-0.57). Plus la couleur est rouge foncé plus la corrélation est positivement forte, plus la couleur est bleu foncé plus la corrélation est négativement forte. Pour simplifier la lecture d'une telle carte, nous avons établi le "network" associé (Figure 25), qui n'est autre qu'un réseau de corrélation résumant cette carte avec une valeur seuil de corrélation qui est fixée par l'opérateur. Nous n'avons retenu que les variables explicatives dont la corrélation avec les variables d'intérêts étaient supérieures ou égales à 0.5. L'interprétation se fait également à l'aide d'une 'Color key'.

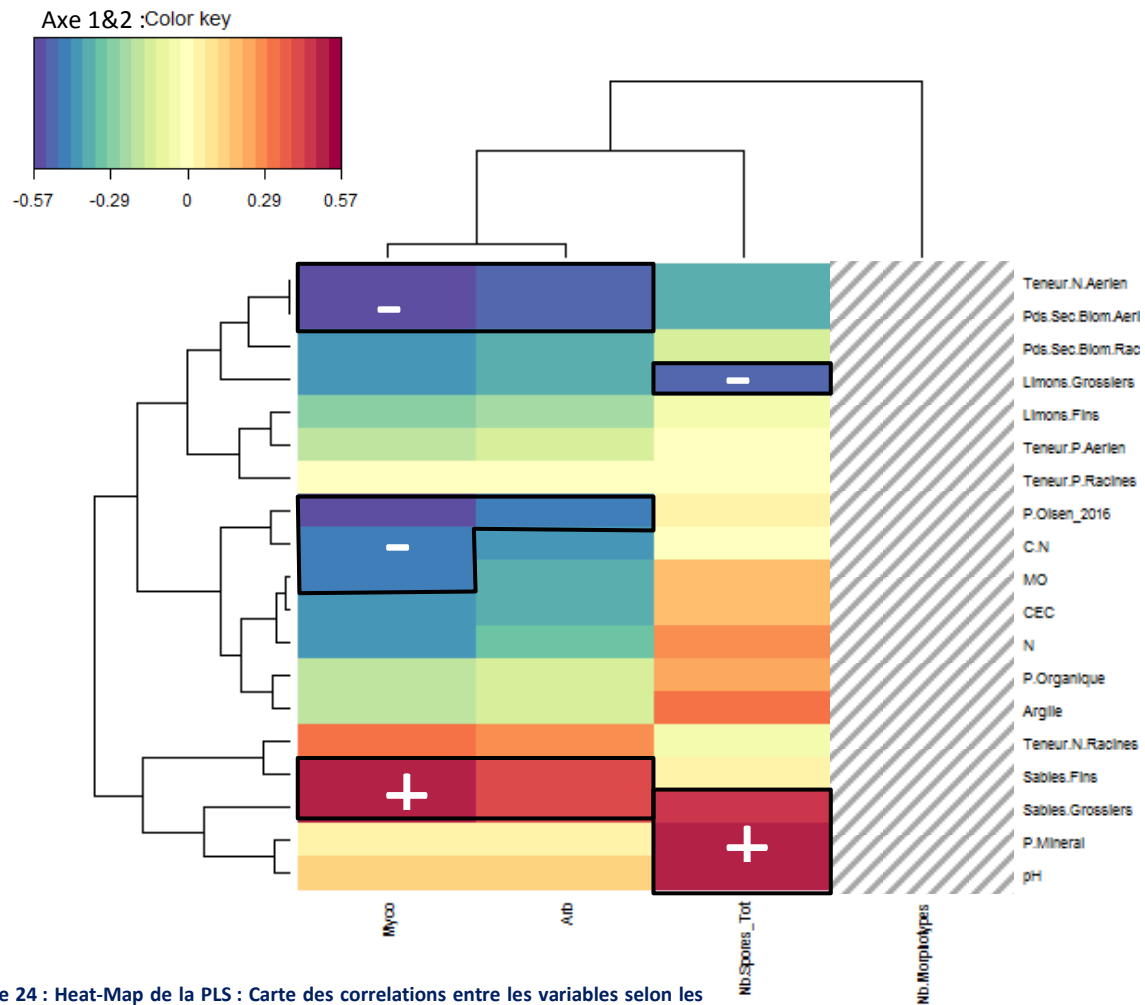


Figure 24 : Heat-Map de la PLS : Carte des corrélations entre les variables selon les

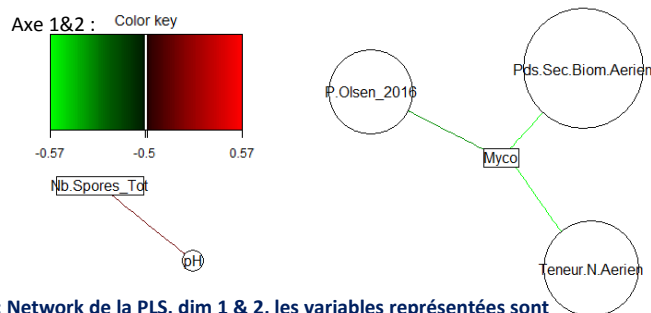


Figure 25 : Network de la PLS, dim 1 & 2, les variables représentées sont celles dont la corrélation avec les variables de CMA sont >0.50.

D'après la 'Heat-map' et le 'Network' (Figure 24 et 25), il ressort que le taux de mycorhization et le nombre d'arbuscules sont négativement corrélés au P Olsen ainsi qu'à la biomasse aérienne et la teneur en N de la partie aérienne des pois.

Le nombre de spores de CMA est positivement corrélé au pH du sol.

IV.DISCUSSION

IV.A- SYSTEMES AUTONOME VS SYSTEMES PRODUCTIFS

Taux de mycorhization et nombre d'arbuscules

Nous voulions vérifier si un système de culture économe en fertilisants organiques (SA), notamment phosphaté, était plus favorable à l'établissement de la symbiose mycorhizienne. Deux de nos site, Saussaye et Dunière ont montré que les SA étaient caractérisés par un taux de mycorhization et un nombre d'arbuscules plus importants que les SP. Dans la littérature scientifique, il est communément admis que l'établissement de

la symbiose est largement contrôlé par le régime de fertilisation au champ et/ou en serre. Il a été montré que l'augmentation d'application de fertilisant phosphaté minéral en agriculture conventionnelle induit une diminution de la colonisation racinaire par les CMA (Mäder *et al.*, 2000 ; Garbaye, 2013). Mäder (2000), en comparant des systèmes biologiques à des systèmes conventionnels à haut niveau d'intrant a obtenu un taux de mycorhization 30 à 60% plus élevé chez des plantes cultivées au champ (blé, trèfle, vesce), et 2.8 fois plus élevé pour un blé inoculé et cultivé sous serre. Concernant le nombre d'arbuscules, aucune bibliographie ne s'est intéressée à ce paramètre d'où la difficulté de pouvoir discuter nos résultats.

De même, afin d'étayer le résultat précédent, nous voulions vérifier si le taux de mycorhization et le nombre d'arbuscules étaient supérieurs dans les sols à faibles disponibilités en P. Nous avons mis en évidence, une relation négative, de forme semi-logarithmique, entre le P disponible du sol (P Olsen) et la colonisation mycorhizienne, et entre le P Olsen et le nombre d'arbuscules. Dai *et al.* (2014) ont déjà documenté une relation négative entre P Olsen et taux de mycorhization chez le blé au Canada : un système biologique avec 2 fois moins de P Olsen dans le sol par rapport à un système conventionnel (0.015 vs 0.037gP₂O₅/Kg) avait un taux de mycorhization plus de deux fois supérieur (23.19% vs 9.35%). Nous pouvons penser que lorsque la ressource phosphatée est faible, la plante va investir davantage dans les CMA afin d'améliorer l'accès à cette ressource, ce qui se traduit par une mycorhization importante. A l'inverse, des concentrations élevées en phosphore disponible (signe d'une fertilisation importante) dans l'environnement proche des racines facilitent son absorption immédiate par la plante ; et que par conséquent, face à cette disponibilité directe des ressources, le rôle de facilitateur des mycorhizes dans la nutrition minérale diminuerait car la plante investirait alors moins dans le transfert de sucre aux champignons, ceux-ci devenant 'parasites' du point de vue de la ressource carbonée pour la plante. Face à cette modification de l'allocation en substances carbonées, la colonisation racinaire par les CMA tendrait donc à diminuer (Fortin *et al.*, 2008 ; Garbaye, 2013). La formation des arbuscules serait impactée de la même façon, cependant aucune bibliographie ne nous permet de discuter ce constat car le comptage des arbuscules est un paramètre presque jamais considéré dans la littérature.

Enfin, nous voulions savoir si dans les SA, la mycorhization permettait à la plante d'avoir un niveau de nutrition P équivalent à celui du traitement SP et donc une croissance équivalente. Nous n'avons pas pu mettre en évidence de réponse claire entre prélèvement de P par la plante, la biomasse et le taux de mycorhization. En effet, les teneurs en P et les biomasses de la culture étaient en majorité similaires quel que soit le système de culture appliqué. Dans la littérature certains auteurs ont rapporté que dans des sols à faible disponibilité en P, il arrivait qu'il n'y ait pas d'amélioration de prélèvement de P par la plante malgré la colonisation racinaire par les CMA (Ryan *et al.*, (2002) cité par Gosling *et al.*, 2006). D'autres, Gavito et Miller (1998), ont cité dans leur article que Guttay et Dandurand (1989) avaient observé que la fertilisation P réduisait la colonisation mycorhizienne mais que cette réduction n'avait pas d'effet sur le prélèvement de P dans les conditions de leur expérience. En 2010, Baird *et al.*, dans une expérimentation au champ sur culture de pois (et de lentille) n'ont également pas trouvé de relation entre la colonisation par les CMA et la concentration en P retrouvé dans la culture. D'autres auteurs, en comparant des plantes mycorhizées (par *inoculum*) à des plantes non mycorhizées (par stérilisation), ont à l'inverse, montré que des systèmes à bas-intrants permettaient d'améliorer le prélèvement en P de la plante par rapport à un système à haut niveau d'intrant (Kahiluoto *et al.*, 2009 ; Mäder *et al.*, 2011). Dans notre étude, nous pouvons penser que, par la présence d'un taux de mycorhization plus élevé, le P aurait été non limitant en SA et se serait traduit par l'absence de différence dans les biomasses entre les deux systèmes. Mais il serait inapproprié d'émettre une relation directe entre mycorhization et prélèvement de P du fait du peu de données que nous possédons. Nous observons là une tendance qui confirme notre hypothèse initiale.

La distinction de nos deux systèmes SA et SP s'est essentiellement portée sur des régimes de fertilisation bien distincts. Toutefois comme nous sommes à l'échelle du système de culture et que nous observons ainsi la résultante de nombreux paramètres de culture, il semble également intéressant de s'interroger sur les impacts qu'ont pu avoir certains paramètres particuliers sur nos résultats. Par exemple, les formes de fertilisants organiques employés peuvent aussi avoir agis sur le taux de mycorhization. La mise sur le marché des produits organiques permet de distinguer les amendements organiques, dont les teneurs en

éléments fertilisants n'excèdent pas 3 % de leur poids brut, des engrais organiques, dont la teneur en éléments doit au contraire être supérieure à 3 % (sur le poids sec) (RMT DévAB, 2009). Les amendements organiques vont contribuer à alimenter la fertilité du sol et à stimuler l'activité microbiologique sur le long terme grâce aux propriétés de la MO (teneur en carbone, rétention en eau, stabilité de la structure). L'utilisation d'engrais organique, lui, va principalement contribuer à une fumure agissant à court terme vis à vis de la vie microbiologique et de la fertilité du sol. De plus, des engrais de type PAT ou Guano contiennent des quantités importantes en P, alors que ceux de type farine de plumes n'en contiennent que peu. A la Saussaye se sont essentiellement des apports d'amendements organiques qui sont réalisés (composte de fumier équin) alors qu'à Dunière et la Hourre ce sont des apports d'engrais organiques (PAT, farine de plumes, Guano). Ces formes d'apports pourraient en partie expliquer le fait que nous obtenons des taux de mycorhization plus élevé à Dunière et à la Hourre par rapport à la Saussaye.

D'autre part, les rotations culturales mises en œuvre au sein de chaque systèmes ont pu, elles aussi, influencer les résultats puisque le taux de mycorhization varie selon les plantes hôtes considérées (Jansa *et al*, 2005 ; Ryan et Kirkegaard, 2012). En effet, nous avons vu en introduction l'importance des rotations culturales pour l'établissement des symbioses mycorhizennes, et que certaines cultures telles que les légumineuses sont fortement mycotrophes alors que les crucifères sont non mycotrophes (Fortin *et al*, 2008). Ainsi, la culture au champ précédant le prélèvement de sol a pu également impacter le taux de mycorhization que nous avons observé. A la Saussaye, la mycorhization plus faible en SP pourrait être liée à la présence de colza, espèce non mycotrophe, au moment du prélèvement de sol ; alors qu'en SA la culture en place était déjà un pois protéagineux, plante mycotrophe, servant ici également de plante-piège. Aussi peut-être qu'il y avait déjà eu un début de sélection des espèces de CMA adaptées à mycorhizer le pois, ce qui biaiserait le résultat. A la Hourre, nous n'avons pas observé de différence entre SA et SP, cela pourrait être dû à la présence avant prélèvement, et dans les deux cas, de pratiques non favorables à la mycorhization : en SA le sol est resté nu, en SP l'inter-culture semée et détruite la veille du prélèvement contenait de la moutarde, plante non mycotrophe. A Dunière, seule la conduite innovante a permis de distinguer SA et SP avec une plus forte mycorhization en SA. Cela pourrait s'expliquer de la manière suivante : la culture principale était la même pour SA et SP, il s'agissait d'un maïs ; cependant, avant ce maïs avait été cultivé un colza, plante non mycotrophe. Dans ce cas, cette culture aurait dû être préjudiciable au deux systèmes et aux deux conduites. Mais l'inter-culture entre colza et maïs n'était pas la même selon la conduite : en 'Classique' se sont les repousses de colza qui ont été laissées, en 'Innovant' c'est un mélange de fenugrec, lentille et gesse qui a été semé. L'effet de l'inter-culture de l'année précédente sur le taux de mycorhization des jeunes stades d'une culture a été démontré par Njeru *et al*. (2014) chez le maïs. Ils ont montré qu'une inter-culture de Vesce (*Vicia villosa*) avant un maïs permettait d'obtenir une mycorhization du maïs de 35%, alors qu'elle n'était que de 20.9% après une moutarde (*Brassica juncea* L. Czern.), soit plus de 10% d'écart, ce qui est du même ordre de grandeur que ce que nous avons trouvé à Dunière. Est-ce que la mycorhization observée en année n serait le reflet de seulement une à deux années antérieures (n-1, n-2), ou d'un passé plus important ? La littérature ne semble pas pouvoir encore apporter de réponse et la question reste à approfondir.

Enfin, la disponibilité en eau est un facteur que nous n'avons pas pris en compte mais qui est peut être intervenu. Le site de Dunière est irrigué et ceux de la Hourre et de la Saussaye ne le sont pas. Cependant, les effets de l'irrigation sur le taux de mycorhization sont controversés. Certaines études ont montré que les précipitations sont un régulateur majeur de la mycorhization (Allen et Allen (1980) et Staddon *et al*. (2003), cités par Owens *et al.*, 2012). D'autres ont montré qu'il n'y avait pas d'effet clairement identifié de l'irrigation sur la mycorhization (Owens *et al.*, 2012). De manière générale, une trop grande sécheresse affecte la colonisation des CMA par altération des cellules corticales de la racine, inhibant la pénétration de l'hyphe ou par modification des *stimuli* de la racine. A l'inverse, une trop grande humidité provoque le collapse et la non-germination des spores de CMA, ce qui réduit considérablement la colonisation (Angulo (1997), Contreras (1987) et Ruiz (1993) cités par Priou, 2013).

Nombre de spores de CMA

Nous voulions vérifier l'hypothèse que les spores de CMA étaient en quantité plus nombreuse dans les systèmes autonome. A la Saussaye, nous avons observé un plus grand nombre de spores de CMA en SP, ce qui va à l'encontre de notre hypothèse, et à l'encontre de la bibliographie. En effet, Gosling *et al.* (2006) ont rapporté que Martensson et Carlgren (1994) ont démontré que même un apport modéré de fertilisant phosphaté conduit sur 5 ans, à raison de 45kg de P minéral/ha/an, réduit le nombre de spores de 50%.

Dans notre étude, pour les 3 sites AB en système Autonome nous avons trouvé 21.52 ± 11.53 spores/g de sol avec des différences allant de 8.61 à 40.61 spores/g de sol, respectivement à la SaussayeAutonomeSol1 et DunièreAutonomeInnovant, soient des sites en AB depuis 6 et 16 ans. Pour les 3 sites en AB en système Productif, nous avons trouvé 33.29 ± 11.88 spores/g de sol avec des différences allant de 20.61 à 49.96 spores/g de sol, respectivement à DunièreProductifClassique et SaussayeProductifSol2, soient des sites en AB depuis 16 et 6 ans. Oehl *et al.* (2003), avaient trouvé pour un champ avec 7 ans de rotation culturale et en culture biologique un nombre de spores moyen de 12.5 spores/g de sol. Ultérieurement, Gosling *et al.* (2010), ont analysé 11 sites de cultures où, pour chaque site, un système conventionnel était comparé à un système biologique. Les 11 systèmes biologiques avaient des durées variables de conversion en AB variant de 1 à 18 ans. Cette étude a montré de manière significative un nombre de spores plus important en AB, avec en moyenne 11.40 ± 0.79 spores/g de sol, par rapport au conventionnel, avec en moyenne 6.14 ± 4.03 spores/g de sol. Au sein des 11 sites en AB, il existait des écarts pouvant aller de 1.39 ± 0.54 à 27.15 ± 12.16 , correspondant respectivement à des sites en AB depuis 18 et 15 ans. Pour des sites plus jeunes en terme de conversion AB *i.e.* de 1 et 7 ans, ils ont trouvé respectivement 8.92 ± 2.87 et 10.06 ± 3.28 spores/g de sol : ces auteurs n'ont pu démontrer aucune relation entre le temps sous AB et le nombre de spores, mais ils ont suggéré que 2 années de conversion en AB sont suffisantes pour augmenter de manière significative le nombre de spores et le potentiel de colonisation mycorhizienne.

A la Saussaye, nous avons observé un plus grand nombre de spores de CMA en SP, système qui, d'après nos résultats précédents est plus faiblement mycorhizé que le SA. Certains auteurs ont trouvé que plus le taux de colonisation mycorhizienne était important plus la production de spores l'était également (Hayman (1970) et Daft et Nicolson (1975), cités par Giovannetti *et al.*, 1988) ; mais d'autres ont trouvé qu'il n'existait aucune relation entre ces deux variables (Hetrick et Bloom (1986) cités par Giovannetti *et al.*, 1986 ; Diagne et Ingleby, 2003). Diagne et Ingleby (2003) proposent comme explication que certaines spores pourraient être non viables ou à l'état de dormance. Nos résultats semblent en faveur du fait que le taux de mycorhization n'est pas dépendant d'un haut niveau de spores et que le nombre de spores n'est pas un bon indicateur de la mycorhization potentielle d'un sol (Doubs *et al.*, 1993, Kurle and Pflieger, 1994 ; cités par Gosling *et al.*, 2010).

De la même façon que pour le taux de mycorhization, ce qui distingue le nombre de spores de CMA entre un système AB et un système conventionnel (sous culture de céréales) est souvent attribué à des différences dans les teneurs en P du sol (Mader *et al.*, 2000). Cependant quand les données issues de nombreux sites sont examinées, la relation entre la teneur du sol en P (P Olsen) et le nombre de spores est souvent absente (Galvan *et al.* (2009) cité par Gosling *et al.*, 2010). Dans notre cas, la relation que nous avons trouvée entre le P Olsen et le nombre de spores était non significative, mais deux dynamiques ont été observées : une relation positive pour des valeurs inférieures à $0.040 \text{gP}_2\text{O}_5/\text{Kg sol}$ et une relation positive pour des valeurs supérieures, ce qui pourrait correspondre à des stratégies de reproduction différente selon la disponibilité du sol en éléments nutritifs. Et par conséquent, le nombre de spores correspondrait peut-être davantage à des structures de survie, et il ne représenteraient pas parfaitement l'image d'un potentiel d'inoculum du fait des différentes stratégies établies selon les espèces de CMA (Sykorova *et al.*, 2007). D'un côté, il existe des stratégies de type r, avec une sporulation importante, dans les stades précoces de succession des communautés de CMA, lorsque les habitats sont non colonisés et à ressources élevés ; d'autre part, il existe des stratégies de type K, dans les stades de succession tardifs, avec une faible sporulation dans des conditions de ressources limitées et un maintien dans les stades tardifs. Cependant, il est difficile de donner des conclusions directes à propos des stratégies d'histoire de vie des champignons détectées grâce à leurs spores,

puisque'il existe en général des compromis dans les comportements de sporulation (Sykorova *et al.*, 2007). Toutefois, les milieux agricoles sont des milieux perturbés, et la culture sous serre que nous avons mise en place n'a duré que 50 jours (≈ 2 mois), ainsi les CMA dont le compromis de stratégie de vie serait plus en faveur d'une stratégie r seraient alors plus adaptés, et c'est ce que notre étude semble conforter avec de nombreuses spores de petites tailles mises en place en SA et SP, et encore davantage en SP où la ressource nutritive est plus élevée.

Enfin, l'intensité du travail du sol pourrait être un autre paramètre expliquant la présence abondante de petites spores dans notre étude. Oehl *et al.* (2003) ont montré qu'une intensification des pratiques agricoles (monoculture) était corrélée avec une sélection d'espèces de CMA qui colonisaient lentement les racines et formaient rapidement des spores.

Un rôle possible du pH et de la texture du sol inhérents à chaque site

La texture des sols et le pH sont d'autres paramètres intervenants au sein de nos systèmes de culture et pouvant influencer le taux de mycorhization. En effet, nos résultats ont montré que les sols de texture sableuse étaient positivement corrélés au taux de mycorhization, au nombre d'arbuscules et au nombre de spores. Une étude menée par Priou (2013) (données non publiées) sur l'étude de substrats biofertilisants à base de mycorhizes, a montré que le taux de germination et le développement végétatif de la plante-hôte étaient meilleurs dans le substrat argileux, mais que le substrat sableux avait obtenu le meilleur taux de spores final dans les conditions de l'expérience. Cependant la texture d'un sol est inhérente à chaque site d'étude, et c'est un paramètre fixe (non modifiables par un système), son rôle est donc ici difficilement interprétable dans notre étude. Nous pouvons penser qu'il peut également s'agir d'un artéfact de manipulation : lors de l'extraction des spores, les sols sableux se dispersent beaucoup mieux dans l'eau que les sols argileux, ce qui pourrait expliquer le nombre important de spores avec la teneur en sable des sols.

Dans notre étude le pH était corrélé positivement avec le nombre de spores. Le P est plus assimilable dans des pH qui s'approchent de la neutralité : dans les sols acides, le phosphore se complexe avec le Fer et devient insoluble ; dans les sols basiques, ce qui est le cas de nos systèmes, il se complexe avec le calcaire. L'adaptation et la capacité de colonisation des racines par les CMA dépendent aussi de leurs tolérances aux variations de pH du sol. Des CMA ont été trouvés dans des sols de pH variant de 2.7 à 9 avec des gammes de tolérance très différentes selon les espèces (Sieverding (1991) cité par Clark, 1997). Cependant, tous nos systèmes étudiés ont des pH supérieur à 7.5, il semble donc difficile de les différencier par ce critère.

IV.B- DIVERSITE DE CMA ET SYSTEME DE CULTURE

Nous n'avons pas pu émettre de réponse permettant de confirmer ou d'infirmer notre hypothèse quant à l'impact des systèmes de culture sur la diversité des CMA. Rappelons que dans notre étude, nous nous sommes intéressés aux morphotypes en nous basant sur la couleur, la forme et la texture des spores. Pour identifier l'espèce il aurait fallu faire des études d'ultrastructure des spores de CMA, or un temps limité et la complexité de la taxonomie ne nous ont pas permis d'approfondir cette voie. D'autant plus qu'il est impossible d'identifier les genres (ou espèces) sur la base de la morphologie des spores lorsque leurs structures caractéristiques (bouclier de germination, sac sporifère, bulbe suspenseur,...) sont absentes (Bago *et al.*, 1998). Or, certaines structures caractéristiques ont été perdues au cours du processus d'extraction des spores et par conséquent il aurait été difficile d'attribuer une identification plus précise à un morphotype. Par ailleurs, la maturité des spores est asynchrone dans le sol (Manga *et al.*, 2007) si bien que les caractéristiques d'un genre peuvent être identifiées chez différents morphotypes. C'est pourquoi, dans notre comptage nous avons peut-être surestimé le nombre de morphotypes puisque que nous avons considéré que deux morphotypes identiques (*que nous considérons comme identiques*), mais l'un observé sur le tamis 45 μm et l'autre sur le tamis 180 μm , comptaient pour 2 morphotypes distincts puisque la taille n'était pas le même et puisqu'un genre de CMA peut avoir plusieurs morphotypes, et un morphotype peut correspondre à plusieurs genres. De

même, puisque le morphotype d'une spore donnée varie au cours de sa vie, cela a pu nous conduire à considérer deux morphotypes différents alors qu'il aurait pu s'agir du même CMA pris à 2 instants différents de son cycle de vie, et ce serait alors une différence temporelle qui serait davantage mise en évidence.

Pour aller plus loin dans l'étude de la diversité de CMA présente, dans ce projet INNOV'AB, il a été prévu une analyse par biologie moléculaire (séquençage d'ADN) des CMA présents dans les racines de la culture ce qui permettra de mettre en évidence les communautés fongiques de CMA qui se sont développés en allant jusqu'à la détermination de l'espèce. Durant ce stage, nous avons justement réalisé l'extraction de l'ADN et l'amplification par PCR (Polymerase Chain Reaction). Les extractions sont à l'heure actuelle stockées à -20°C en attendant leurs séquençage en Décembre 2016.

Enfin, l'effet des pratiques culturales sur la diversité de spores de CMA est débattu. Morer *et al.* (2014) ont montré une diversité de spores plus importante sous semi-direct que sous labour ; et c'est ce qui est majoritairement reporté dans la littérature. Mais une étude très récente comparant une pratique conventionnelle (*i.e.* labour total sur 20 cm) ou réduite (*i.e.* seuls les 5 premiers cm sont labourés) a mis en évidence que, à la fois pour les bactéries et les CMA, la diversité était significativement plus importante sous pratique conventionnelle (Degrune *et al.*, 2016). Les auteurs eux-mêmes ont été surpris de ce résultat et ont postulé que pour les bactéries, le labour devait casser les agrégats de sol, libérant ainsi de la MO disponible pour l'activité des bactéries. Pour les CMA, la destruction physique de leurs hyphes par le labour permettrait de créer un nouvel espace disponible pour l'installation d'autres espèces.

IV.C- LIMITES DE NOTRE ETUDE

Temps de culture et phénologie de la plante-hôte

Notre expérimentation a permis d'atteindre des taux de mycorhization variant de 20% à 54% (38.2% en moyenne) en 50 jours. Baird *et al.* (2010) ont obtenu un taux de mycorhization des racines de pois de 60% à 30j et 80% à 50j lors d'une expérimentation par inoculation et culture sous serre : les graines avaient été inoculées avec un *inoculum* dilué dans une solution saline phosphatée au départ, puis après 6 jours, plantées en pot et arrosées uniquement avec de l'eau à 65% de la capacité au champ. D'autres chercheurs rapportent une obtention de colonisation par les CMA d'environ 75 % des racines des pois après 50 j de culture dans un champ conventionnel (Jakobsen et Nielsen (1983) cités par Baird *et al.*, 2010). Ces différences pourraient être expliquées par le fait qu'il semblerait que le développement de mycélium et la sporulation soient influencés par la phénologie de la plante hôte (Bethelenfalvay *et al.* (1979) cité par Giovannetti *et al.*, 1988). Il aurait été intéressant de prolonger la croissance des pois et de faire un prélèvement racinaire à différents stades de la culture afin d'avoir un suivi de la mycorhization selon le temps de développement de la plante. D'autant plus qu'il a été documenté par le passé que la colonisation mycorhizienne permettrait de diminuer le temps mis pour initier les stades de reproduction et augmenter la production (Bethlenday *et al.* (1982) et Lu et Koide (1994) et Trimble et Knowles (1995) cités par Gavito et Miller, 1998). Dans le cas de notre étude, l'arrêt de la culture à 8 semaines été voulu afin d'éviter une modification dans l'allocation des ressources nutritives au sein de la plante lors des stades de fructification et de sénescence.

Culture en serre vs plein champs

Notre culture en serre s'effectuant dans des conditions différentes des conditions naturelles, les CMA qui se sont développés et ont mycorhizé les racines de notre culture peuvent ne pas être tout à fait les mêmes que ceux que nous pourrions trouver sur le terrain du fait de nombreuses contraintes environnementales. Sykorova *et al.* (2007) ont montré que, pour un sol donné, les communautés qui se développaient n'étaient pas les mêmes selon qu'il s'agissait d'une culture réalisée en plein champs ou d'une culture réalisée avec une plante piège sous serre. Mais, bien que notre expérimentation se soit déroulée sous serre, celle-ci a été réalisée avec de 'vrais' sols issus des champs et qui n'ont pas été traités par autoclave. De plus, les graines de

pois qui ont été plantées n'ont pas été stérilisées en surface avant de les mettre en pot, ce qui est généralement la méthodologie que nous pouvons retrouver dans la littérature derrière le terme de « culture sous serre ». Ainsi, nous pouvons considérer que notre étude reflète une image assez fidèle du champ. Par contre, il reste vrai qu'une culture en pot contraint les racines en termes de volume de sol disponible pour l'exploration racinaire, ce qui pourrait être un facteur d'influence.

Légumineuse et mycorhizes

Pour ce projet, bien que nous ayons fait le postulat que le facteur 'nutrition azotée' était supposé neutre dans notre expérience du fait du choix d'une légumineuse comme plante piège, celui-ci reste discutable. Nous avons observé que la teneur en azote ne différait pas à l'échelle de la plante entière selon les systèmes, ce qui confirmerait notre hypothèse. Nous avons toutefois pu constater que la teneur en N au niveau des racines répondait parfois faiblement et pas toujours dans le même sens. De ce fait, nous n'avons pas pu établir de lien entre mycorhization et teneur en azote de la plante, mais il semblerait qu'il existe des interactions entre *Rhizobium* et mycorhizes. En 2011, Farzaneh *et al.* ont montré qu'un pois-chiche (légumineuse) mycorhizé (par inoculum commercial) permettait d'augmenter le prélèvement en micro et macronutriments à partir d'un taux de mycorhization racinaire compris entre 18 et 55 % ; cependant aucun effet significatif du taux de mycorhization dans l'absorption d'N n'a pu être mis en évidence. Ce résultat est à relativiser car cette étude souligne qu'elle n'a pas pris en compte l'interaction entre l'N provenant de la fixation du diazote atmosphérique par les *rhizobium* et celui provenant des hyphes des CMA. Une autre étude a montré qu'une co-inoculation de *Rhizobium* et de CMA permettait une meilleure nutrition (en N et P) et production de biomasse chez la luzerne et le pois, qu'une inoculation séparée avec chacun de ces deux symbiotes (Barea *et al.* (2005) cité par Richardson *et al.*, 2009). Il semblerait que l'effet des mycorhizes sur l'absorption d'N soit indirect dans le cas des légumineuses : c'est par l'augmentation de l'assimilation du P que les mycorhizes favoriseraient la fixation biologique du N₂ atmosphérique par le *Rhizobium* en stimulant la nodulation (Mosse (1977) cité par Carling *et al.*, 1978). L'étude de mutants a montré que, si les mutants de nodulation pouvaient souvent encore établir des mycorhizes, les mutants déficients pour la mycorhization ne faisaient plus de nodules fixateurs d'azote. L'origine évolutive de ces deux symbioses montrerait que les mycorhizes sont apparues bien avant les nodules fixateurs d'azote, mais en revanche, il semblerait que les facteurs *Nod* initiant la nodulation, et les facteurs *Myc* initiant la mycorhization, possèdent des voies communes de signalisation (Suty, 2015). A l'heure actuelle, il n'existe pas de réponse précise et sûre quant aux rôles de chacun dans leurs interactions. Si notre expérience devait être reconduite, il serait intéressant d'essayer de comprendre quelle(s) interaction(s) sont susceptibles d'exister entre *Rhizobium* et CMA. D'une part, nous pourrions compter le nombre de nodosités sur les racines en parallèle du taux de mycorhization. D'autre part, il faudrait cultiver en parallèle de la légumineuse, une plante non fixatrice d'N atmosphérique (céréale) afin de mesurer la fixation à partir de mesures d'abondances naturelles de l'isotope N¹⁵, et de voir la part fixée par la légumineuse selon la présence plus ou moins importante de P disponible dans le sol et de la colonisation par les mycorhizes.

IV.D- BILAN : VERS UNE VISION PLUS COMPLEXE DU ROLE DES CMA DANS LE CYCLE DU P AU SEIN DE L'ECOSYSTEME SOL

Il semble évident que les CMA peuvent interagir avec les autres microorganismes de la rhizosphère (Richardson *et al.*, 2009). Ainsi il conviendrait de mieux replacer les CMA au sein de l'écosystème rhizosphérique pour mieux comprendre leur rôle dans les relations trophiques régissant le cycle du P (Richardson *et al.*, 2009 ; Cao, Huang et Wang, 2015).

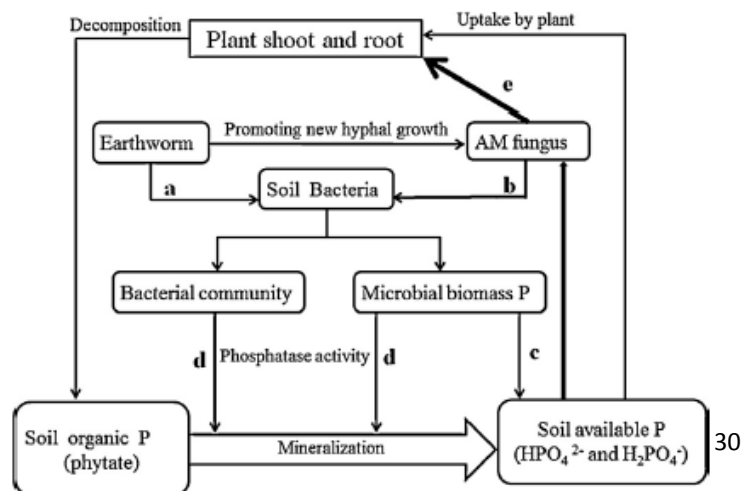


Figure 26 : Représentation schématique des interactions entre Mycorhizes (AM fungus) et organismes de la rhizosphère pour le cycle du P, d'après Cao, Huang et Wang, 2015.

Comme le montre la figure 26 : Les vers de terre, amélioreraient le turnover du P organique au niveau de la drilosphère (Jiménez *et al* (2003) cité par Cao, Huang et Wang, 2015). De plus, il semblerait que le mucus des vers de terre diffuse des groupes carboxyles qui peuvent bloquer et entrer en compétition pour l'absorption du P, ce qui améliore le P soluble (biodisponible). Les vers de terre stimulent également l'activité microbiologique du sol (a), et stimuleraient la croissance de nouveaux hyphes chez les CMA (Cao, Huang et Wang, 2015). Les CMA auraient eux aussi la capacité de stimuler la croissance des bactéries (b). Les bactéries sont beaucoup plus efficaces à immobiliser le P et donc une grande quantité de P est immobilisé dans la biomasse microbienne ce qui fait des bactéries un puits majeur de P (c). Des études récentes ont montré que les bactéries jouaient un rôle majeur dans la minéralisation des nutriments, tels que le P, grâce à des phosphatases, notamment les phytases, qui permettent d'augmenter le P biodisponible (d). Les bactéries ont ainsi un rôle d'intermédiaire dans la mise à disposition du P disponible pour la plante. Après minéralisation, les ions PO_4 peuvent être absorbés par les CMA grâce à leur important réseau d'hyphe permettant d'exploiter de large surface et volume de sol, ce qui fait des CMA une importante pompe de transfert dans le cycle du P (e). Expliquer les interactions entre CMA et biontes des sols agricoles est extrêmement complexe, et peu d'études se sont penchées sur l'identification des voies de mise à disposition des ions PO_4 issus du P organique.

IV.B- LES MYCORHIZES, UN INDICATEUR DE FERTILITE DES SOLS ?

Aux vues de nos résultats, il apparait que la mesure d'un taux de mycorhization est simple à mettre en œuvre : la récolte de racine et le protocole de coloration sont peu contraignants, seul le comptage l'est davantage. D'ailleurs, concernant le comptage, comme nous avons montré une forte corrélation entre taux de mycorhization et nombre d'arbuscules, ceci nous a conduit à obtenir les mêmes résultats avec ces deux variables, je préconiserais alors de n'utiliser que le taux de mycorhization, ce dernier étant en moyenne 6 fois plus rapide à mesurer.

Les mycorhizes sont capables de 'refléter' le système de culture appliqué, notamment en termes de fertilité phosphatée des sols. Néanmoins, la sensibilité de cet indicateur n'est apparue qu'à partir d'une différence de facteur 30 et 72 dans les apports en P entre SA et SP (Dunière et Saussaye, soit une différence de facteurs en P Olsen respectivement de 1.7 et 1.4). Une différence de facteur 3 n'a pas été suffisante pour mettre en évidence cette distinction (Hourre avec aucune différence de P Olsen).

Cependant, l'interprétation de cet indicateur reste quant à elle difficile du fait de nombreux paramètres agronomiques en interactions. D'où l'intérêt de se positionner à l'échelle du système de culture. Il semble impossible d'établir une grille simple de lecture d'un tel indicateur : pour une meilleure interprétation on pourrait envisager d'étalonner cet indicateur pour chaque cultures et chaque types sol, et ce, dans un lieu géographique donné, mais la tâche semble complexe.

Si le taux de mycorhization est un indicateur d'intérêt limité, l'identification des espèces de CMA semble prometteuse dans l'avenir. Les études d'Oehl *et al.*, (2011 et 2016), ont permis de conclure que les sols agricoles pouvaient être caractérisés par leurs communautés de CMA. La présence ou l'absence d'espèces caractéristiques servirait ainsi d'indicateur biologique rendant compte du mode et de l'intensité d'exploitation des terres. Cependant, afin d'établir un indicateur rapide, fiable et rendant compte de l'environnement pédoclimatique d'un système de culture, il faudrait se baser sur des études génomiques. Toutefois, bien qu'il existe de nombreuses études analysant la diversité des CMA sur la base de séquençage de l'ADN des spores d'un sol, aucunes n'a encore réussi à établir le rôle fonctionnel de telle ou telle espèce au sein de l'agroécosystème.

V-CONCLUSION

L'agriculture est la plus grande interface entre les hommes et l'environnement. Ainsi, la protection de l'environnement ne peut passer que par une réconciliation entre la production agricole et l'intégrité environnementale. Ceci implique le besoin de développer des stratégies de gestions agraires qui optimisent la

fertilité des sols, la diversité biologique et la production des cultures, en créant des formes d'agrosystèmes qui respectent les processus écologiques naturels permettant d'assurer une productivité raisonnée sur le long terme (Altieri (1995&1999) cité par Gianinazzi *et al.*, 2010). L'amélioration ou le maintien de la fertilité des sols en AB repose sur une approche intégrative de l'ensemble du système de culture du fait de l'absence de solution chimiques et de la complexité des techniques à mettre en œuvre sur les parcelles pour répondre aux différents freins agronomiques en même temps. Afin de diagnostiquer l'état de fertilité des sols et plus particulièrement d'anticiper une problématique future de baisse de fertilité phosphatée avérée en système de grandes cultures AB, notre étude s'est intéressée aux Champignons Mycorhiziens Arbusculaires (CMA), symbiontes des racines des cultures susceptibles d'améliorer le prélèvement en P. Notre premier objectif était de savoir si des systèmes AB à haut niveaux de fertilisation (dénommés ici Systèmes Productifs (SP)) et bas niveaux de fertilisation (dénommés ici Système Autonomes (SA)) modifiaient la capacité des CMA à mycorhizer les racines des cultures, avec un accent porté sur la problématique de fertilisation phosphatée. Grâce à la mesure du P Olsen (P disponible dans le sol et reflétant les régimes de fertilisation appliqués), nous avons montré qu'il existait une relation négative entre le P disponible dans le sol (P Olsen) et taux mycorhization, et entre P Olsen et nombre d'arbuscules. Ce résultat obtenu pour trois systèmes AB implantés dans des conditions pédoclimatiques contrastées permet donc de donner un caractère généralisable à ce qui a déjà été observé en comparant des systèmes AB à des systèmes conventionnels. Les résultats issus du comptage du nombre d'arbuscules sont les mêmes que ceux concernant le taux mycorhization : ceux-ci font l'originalité de notre étude car la mesure du nombre d'arbuscules est absente de la littérature. D'autre part, nous voulions voir si nous pouvions établir une relation entre le taux de mycorhization, la teneur en P de la culture et la biomasse de la culture. Mais nous n'avons pas pu expliquer de telles relations. L'autre objectif était exploratoire et visait à estimer si le taux de mycorhization pouvait être un indicateur rendant compte de l'effet des différents systèmes de culture sur la fertilité phosphatées des sols. Nous avons constaté que le taux de mycorhization était un indicateur simple et rapide à mettre en œuvre, sensible à partir d'un certain seuil de P distinguant les systèmes de cultures, mais difficilement interprétable. Cette difficulté d'interprétation s'explique par le fait que le potentiel mycorhizogène d'un sol est ici le résultat d'interactions complexes entre de nombreux facteurs. Notre étude nous permet donc simplement de dire que les systèmes favorables aux mycorhizes sont ceux combinant plusieurs techniques telles que l'insertion de légumineuses, des rotations longues et diversifiées, peu ou pas d'emploi de fertilisants et s'il y a lieu préférer ceux de type amendements, le non labour et des inter-cultures mycotrophes. Mais, d'autres paramètres, non pris en compte dans notre étude, tels que le mode de culture sous serre, la phénologie de la plante hôte, les conditions pédoclimatiques inhérentes à un site, et les interactions avec les biontes vivants dans la rhizosphère, ont pu impacter nos résultats. Peu d'expérimentations système ont été décrites dans la littérature concernant le potentiel mycorhizogène des sols. Mais cette échelle système va sûrement devoir se développer de manière prépondérante dans les années à venir puisqu'elle semble être l'échelle la plus adaptée pour imaginer des agroécosystèmes résilients et respectueux de l'environnement à l'avenir.

Pour finir, je voudrais insister sur le fait que les mycorhizes sont certes un levier très intéressant pour le recyclage des nutriments dans le sol, mais leur rôle est intimement lié à l'activité des autres organismes biologiques du sol qui eux-mêmes sont impactés par toutes les pratiques agricoles appliquées en surface. Je veux dire par là qu'il ne faut pas compter uniquement sur ce critère pour améliorer la fertilité des terres agricoles, et faire une apologie des mycorhizes qui risquerait d'être détourné afin d'alimenter une promotion d'utilisation commerciale de bio-inoculant. Les mycorhizes peuvent être considérées comme un levier parmi d'autres, pouvant contribuer à une amélioration de la fertilité des terres ; elles peuvent être aussi considérées comme des organismes occupant tout simplement une place dans l'écosystème et dont l'architecture des structures (arbuscules) et l'ingéniosité du fonctionnement est remarquable. Je crois fermement que tous les leviers nécessaires à améliorer nos systèmes de productions actuels sont dans la nature mais encore faut-il prendre le temps de l'observer.

BIBLIOGRAPHIE

- Akiyama K., 2007. Chemical identification and functional analysis of apocarotenoids involved in the development of arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Bioscience biotechnology and biochemistry*, 71(6): pp. 1405-1414
- Bago B., Bentienga S.P., Brenac V., Dodd J.C., Piche Y., Simon L., 1998. Molecular Analysis of *Gigaspora* (*Glomales Gigasporaceae*). *New phytol.*, 139, pp. 581-588
- Baird J.M., Walley F.L., Shirliffe S.J., 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi colonization and phosphorus nutrition in organic field pea and lentil. *Mycorrhiza*, 20, pp. 541-549
- Berner A., Böhm H., Brandhuber R., Braun J., Brede U., Roesgen J., Demmel M., Dierauer H., Ewald B., Fließbach A., Fuchs J., Gattinger A, Heß J, Hülsbergen K.J., Kölchli M., Kolbe H., Koller M., Mäder P., Müller A., Patzel N., Pfiffner L., Schmidt H., Weller S., Wild M., 2013. Les principes de la fertilité des sols. *Bio Suisse et FiBL* (Institut de recherche de l'agriculture biologique) 1ere édition, Frick (Suisse), 32 p.
- Bispo A., Grand C. et Galsomies L., 2009. Programme ADEME « bioindicateurs de qualité des sols » : Vers le développement et la validation d'indicateurs biologiques pour la protection des sols, *Étude et Gestion des Sols*, 16, pp. 145-158
- Cao J., Huang Y., Wang C., 2015. Rhizosphere interactions between earthworms (*Eisenia fetida*) and arbuscular mycorrhizal fungus (*Funneliformis mosseae*) promote utilization efficiency of phytate phosphorus in maize. *Applied Soil Ecology*, 94, pp. 30-39
- Carling D.E., Riehle W.G., Brown M.F., Johnson D.R., 1978. Effects of a Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungus on Nitrate Reductase and Nitrogenase Activities in Nodulating and Non-Nodulating Soybeans. *Phytopathology*, 68, pp. 1590-1596
- Clark R.B., 1997. Arbuscular mycorrhizal adaptation, spore germination, root colonization, and host plant growth and mineral acquisition at low pH. *Plant and Soil*, 192 (1), pp. 15-16
- Colomb B., Jouany C., Prieur L., 2013. Des bilans majoritairement négatifs pour les systèmes de grandes cultures biologiques sans élevage en Midi-Pyrénées. Quels impacts sur le phosphore biodisponible des sols et l'état de nutrition des cultures ? *Innovations Agronomiques*, 32, pp.73-82
- COMIFER Groupe PK, 1995. Aide au diagnostic et à la prescription de la fertilité phosphate et potassique des grandes cultures, *COMIFER Paris*, 28 p.
- Cornelissen J. H. C., S. Lavorel, E. Garnier, S. Díaz, N. Buchmann, D. E. Gurvich, P. B. Reich, H. Steege, H.D. Morgan, M.G.A. Heijden, J.G. Pausas et H. Poorter, 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Aust. J. Bot*, 51 (4), pp. 335-380
- Dai M., Hamel C., Bainard L.D., Arnaud M.S., Grant C.A., Lupwayi N.Z., Malhi S.S., Lemke R., 2014. Negative and positive contributions of arbuscular mycorrhizal fungal taxa to wheat production and nutrients uptake efficiency in organic and conventional systems in the Canadian prairie. *Soil Biology and Biochemistry*, 74, pp. 156-166

- Degrune F., Theodorakopoulos N., Dufrêne M., Colinet G., Bodson B., Hiel M.P., Taminiau B., Nezer C., Daube G., Vandebol M., 2016. No favorable effect of reduced tillage on microbial community diversity in a silty loam soil (Belgium). *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 224, pp. 12–21
- De Silguy C., 1994. Etude et Recherche sur les Systèmes Agraires et le développement, *Dossier Agriculture biologique impact sur la qualité des produits et l'environnement organisation des filières*, pp. 59-63
- Diagne O., Ingleby K., 2003. Ecologie des champignons mycorhiziens arbusculaires infectant *Acacia raddiana*. In: Grouzis Michel (ed.), Le Floc'h E. (ed.) *Un arbre au désert : Acacia raddiana.*, Paris : IRD, pp. 205-228
- Farzaneh M., Vierheilig H., Lössl A., Kaul H.P., 2011. Arbuscular mycorrhiza enhances nutrient uptake in chickpea. *Plant Soil Environ.*, 57, pp. 465-470
- Fortin J.A., Plenchette C., Piché Y., 2008. Les mycorhizes la nouvelle révolution verte. Chapitres 10, Les mycorhizes en agricultures. Ed. *MultiMondes*, Québec, pp. 87-108
- Garbaye J., 2013. La symbiose mycorhizienne, une association entre les plantes et les champignons. Ed. *Quae*, Versailles, 251 p.
- Gavériaux J.P., 2012. Les Glomeromycota – Mycorhizes VAM et *Geosophon pyriformis* (Kützing) Wettstein, *Bull. Soc. Mycol. Nord Fr.*, n°92, pp. 1-17
- Gavito M.E. et Miller M.H., 1998. Early phosphorus nutrition, mycorrhizae development, dry matter partitioning and yield of maize. *Plant and Soil*, 199, pp. 177-186
- Gerdemann J.W. et Nicholson T.H., 1963. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting, *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 46, pp. 235-244
- Gianinazzi S., Gollotte A., Binet M.N., van Tuinen D., Redecker D. et Wipf D., 2010. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza*, 20, pp. 519-530
- Giovannetti M., Schubert A., Cravero M.C., Salutini L., 1988. Spore production by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus monosporum* as related to host species, root colonization and plant growth enhancement. *Biology and Fertility of Soils*, 6 (2), pp. 120-124
- Gosling P., Hodge A., Goodlass G., Bending G.D., 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 113, pp.17-35
- Gosling P., Ozaki A., Jones J., Turner M., Rayns F., Bending G.D., 2010. Organic management of tilled agricultural soils results in a rapid increase in colonization and spore populations of mycorrhizal fungi. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 139, pp. 273-279
- Jansa J., Mozafar A., Frossard E., 2005. Phosphorus acquisition strategies within arbuscular mycorrhizal fungal community of a single field site. *Plant and Soil* 276, pp. 163–176
- Jansa J, Wiemken A, Frossard E. 2006. The effects of agricultural practices on arbuscular mycorrhizal fungi. *Geol. Soc. Lond. Spec. Publ.*, 266, pp. 89-105
- Jensen A. et Jakobsen, I., 1980. The occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhiza in barley and wheat grown in some Danish soils with different fertilizer treatments. *Plant and Soil*, 55, pp. 403–414

- Kahiluoto H., Ketoja E., Vestberg M., 2009. Contribution of arbuscular mycorrhiza to soil quality in contrasting cropping systems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 134, pp. 36–45
- Karandashov V. et Bucher M., 2005. Symbiotic phosphate transport in arbuscular mycorrhizas. *Trends in Plant Science*, 10, n°1 pp.22-29
- Mäder P., Edenhofer S., Boller T., Wiemken A. and Niggli U., 2000. Arbuscular mycorrhizae in a long-term field trial comparing low-input ('organic', 'biological') and high-input ('conventional') farming systems in a crop rotation. *Biology & Fertility of Soils*, 31, pp. 150-156
- Mäder P., Kaiser F., Adholeya A., Singh R., Uppal H.S., Sharma A.K., Srivastava R., Sahai V., Aragno M., Wiemken A., Johri B.N., Fried P.M., 2011. Inoculation of root microorganisms for sustainable wheat-rice and wheat-black gram rotations in India. *Soil Biology and Biochemistry*, 43, pp. 609-619
- Manga A., Diop T.A., Tuinen D.V., Neyra M., 2007. Variabilité Génétique des champignons mycorrhiziens associés à *Acacia seyal* en zone semi-aride du Sénégal. *Secheresse (Article scientifique)*, 18 (2), pp. 129-133
- Maurer C., Rüdy M., Chervet A., Sturny W.G., Flisch R. et Oehl F., 2014. Diversité des champignons mycorrhiziens arbusculaires sous semis direct et sous labour. *Recherche Agronomique Suisse*, 5, pp. 398–405
- Menasserri-Aubry S., 2015. Fertilité des sols : processus microbiens et leviers de gestion. [Enseignement dispensé par UP AGAP, Département SVAH, Unité Mixte de Recherches INRA/Agrocampus-Ouest Sol Agro et Hydrosystèmes et Spatialisation, et suivi à Agrocampus-Ouest, module Agroécologie.] Rennes, 19 Avril 2015
- Morel C., Le Clech B., Linères M., Pellerin S., 2006. Gare à la baisse de la biodisponibilité du phosphore. *AlterAgri*, 79, pp. 21-23
- Njeru E.M., Avio L., Sbrana C., Turrini A., Bocci G., Barberi P., Giovannetti M., 2014. First evidence for a major cover crop effect on arbuscular mycorrhizal fungi and organic maize growth. *Agron. Sustain. Dev.*, 34 (4), pp. 841–848
- Oehl F., Sieverding E., Ineichen K., Mäder P., Boller T., Wiemken A., 2003. Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of central Europe, *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (5), pp. 2816-2824
- Oehl F., Jansa J., Ineichen K., Mäder P., Van der Heijden M., 2011. Champignons mycorrhiziens arbusculaires, bioindicateurs dans les sols agricoles suisses. *Recherche Agronomique Suisse*, 2, pp. 304-311
- Oehl F., Oberholzer H.R., Heijden M.G.A., Laczko E., Jansa J. et Egli S., 2016. Champignons mycorrhiziens arbusculaires: bio-indicateurs dans les sols agricoles. *Recherche Agronomique Suisse*, 7 (1), 48–55
- Olsen S.R., Cole C.V., Watanabe F.S., Dean L.A., 1954. Estimation of available phosphorous in soils by extraction with sodium bicarbonate. *Cir. U.S. Dep. Agr.*, n° 939, pp. 1-19
- Owens H., LaFantasie J., Adler P.B., 2012. Mycorrhization rates of two grasses following alterations in moisture inputs in a southern mixed grass prairie. *Applied Soil Ecology*, 60, pp. 56-60
- Petibon P., Roumet C., Jouany C. (2000). Détermination de la teneur en phosphore par la méthode au vert de malachite : adaptation à de petits échantillons végétaux de faible teneur en phosphore. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 43, pp. 3-8.

- Plassard C., Robin A., Le Cadre E., Marsden C., Trap J., Herrmann L., Waithaisong K., Lesueur D., Blanchart E., Chapuis-Lardy L., Hinsinger P., 2015. Améliorer la biodisponibilité du phosphore : comment valoriser les compétences des plantes et les mécanismes biologiques du sol ? *Innovations Agronomiques*, 43, pp. 115-138
- Richardson A.E., Barea J.M., McNeill A.M. et Prigent-Combaret C., 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil*, 321, pp. 305-339
- Ryan M.H., Kirkegaard J.A., 2012. The agronomic relevance of arbuscular mycorrhizas in the fertility of Australian extensive cropping systems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 163, pp. 37-53
- Sebillotte M., 1990. Système de culture, un concept opératoire pour les agronomes. In: L. Combe et D. Picard coord., *Les systèmes de culture*. Inra, Versailles, pp. 165-196
- Smith S., Read D., 1997. Mycorrhizal symbiosis. Ed. Academic Press, Second edition, pp. 490-587 [Résumé et Introduction pp. 1-8]
- Suty L., 2015. Les végétaux: des symbioses pour mieux vivre. Ed. Quae, Versailles, 56 p.
- Sykorova Z., Ineichen K., Wiemken A., Redecker D., 2007. The cultivation bias: different communities of arbuscular mycorrhizal fungi detected in roots from field, from bait plants transplanted to the field and from a greenhouse trap experiment. *Mycorrhiza*, 18, pp. 1-14
- Tenenhaus M., 1998. La régression PLS : théorie et pratique, Ed. Technip, Paris, 261 p.
- Trouvelot A., Kough J.L. et Gianinazzi-Pearson V., 1986. Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In : *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*, V. Gianinazzi-Pearson and S. Gianinazzi (eds.). INRA Press, Paris, pp. 217-221
- Vakoumé O., 2014. Evaluation de la sensibilité de l'indicateur « taux de mycorhization » des racines de maïs et soja aux pratiques agricoles en AB. [Données non publiées fournies par INRA-UMR AGIR, Toulouse et ISARA-Lyon]. Rapport de stage de 2ème année d'IUT Génie biologique option Agronomie, IUT Lyon 1, 53 p.
- Vierheilig H., Coughlan A., Wyss U. et Piché Y., 1998. Ink and Vinegar, a Simple Staining Technique for Arbuscular-Mycorrhizal Fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (12), pp. 5004 -5007
- Watson C.A., Atkinson D., Gosling P., Jackson L. Rayns F.W., 2002. Managing soil fertility in organic farming systems. *Soil Use & Management*, 18, pp. 239-247
- Wipf D., 2013. Les mycorhizes, une alliance plante-champignon découverte en 1885 et encore mal connue? *Conférence lors de la 10^{ème} rencontre Bourgogne Nature*. Dijon, 15-16 Nov. 2013

Sites Internet :

Hamza Nabila, 2014. Application des mycorhizes arbusculaires en culture maraîchère cas de la pastèque (*Citrullus lanatus*). Magister en Biologie et physiologie végétale, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Algérie, pp. 83. Disponible sur <http://www.univ-setif.dz/MMAGISTER/images/facultes/SNV/2014/HAMZA%20Nabila.pdf>

Husson F., Josse J., Lê S., Mazet J. (2007). FactoMineR: Factor Analysis and Data Mining with R. R package version 1.04, URL <http://CRAN.R-project.org/package=FactoMineR>

INVAM [International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi] (2016). Site internet présentant et décrivant une collection de référence de champignons mycorrhiziens arbusculaires, ainsi que la classification taxonomique de ceux-ci : <http://invam.wvu.edu/> consulté le 10/05/16 et le 14/06/16

ITAB [Institut Technique de l'Agriculture Biologique] (2016). Site internet publiant des fiches techniques AB, et présentant le réseau des 12 dispositifs expérimentaux longue durée du réseau RotAB ayant pour but d'évaluer la durabilité et la performance de systèmes de cultures innovants en grandes cultures biologiques : <http://www.itab.asso.fr> consulté le 05/01/2016 et le 13/04/16.

LAS [Laboratoire d'Analyses des Sols d'Arras] (2016). Site internet du laboratoire de l'INRA à Arras décrivant les différentes méthodes d'analyses des sols utilisées par le labo : <http://www6.npc.inra.fr/las> consulté le 18/07/2016

Pierart A., 2012. Interactions entre mycorhization, nutrition en phosphore et adaptation de la plante à la toxicité du nickel sur substrat ultramafique. Vers une optimisation de la mycorhization d'*Alphitonia neocaledonica*. Mém. Ingénieur Gestion Durable du Végétal en Horticulture et Aménagement Paysager, Agrocampus Ouest Angers, Univ. Nouvelle Calédonie, 42 p. [*Agricultural sciences*, Archives ouvertes HAL <dumas-00745807>]

Priou L., 2013. Multiplication des mycorhizes arbusculaires en milieu liquide et solide afin d'améliorer la formulation de biofertilisants. Mém. Ingénieur Gestion Durable du Végétal en Horticulture et Aménagement Paysager, Agrocampus Ouest Angers, Laboratoire de microbiologie de la fondation Proinpa de Cochabamba (Bolivie), 35 p. [*Agricultural sciences*, Archives ouvertes HAL <dumas-00975007>]

RMT DévAB, 2009. Agronomie – Fiche n°6: La fertilisation organique en AB, téléchargeable sur www.devab.org rubrique Axe 1, consulté le 27/07/2016

Stevenin A., 2011. Symbiose mycorhizienne : développement de nouvelles méthodes pour la synthèse de glycoconjugués bioactifs. Thèse, Université Paris Sud - Paris XI, 329 p. [Archives ouvertes HAL <https://tel.archives-ouvertes.fr/file/index/docid/737492/filename/VA2_STEVENIN_ARNAUD_23092011.pdf>]

UNIFA [Union des industries de la fertilisation] (2016). Site internet présentant des fiches pratiques à vocation éducatives sur les questions relatives à la fertilisation en agriculture, fiche « Parlons fertilisation », UNIFA Edition 2005 : http://www.unifa.fr/fichiers/cd_ferti/dossiers/pdf/PI/3_RaisonnementFertilisation.pdf consulté le 13/04/2016

ANNEXES

Annexe 1: Les 12 sites expérimentaux du projet RotAB

RotAB

un réseau de 12 sites animé par l'ITAB

Kerquihenec
 Depuis 2012
 6 ha (6 parcelles)
 1 système de culture : 1 rotation de 6 ans (Féverole printemps / Triticale / Maïs grain / Blé-féverole / Sarasin / Triticale-pois) ; utilisation de fumier de volaille 1 fois sur la rotation, couvert avant cultures de printemps
 Contact : auretien.dupont@retagne.chambagri.fr

Rotaleg - Thorigné
 Depuis 2011
 2,3 ha (15 parcelles)
 5 systèmes de culture (3 répétitions) : 1 rotation type de 3 ans ; 3 rotations de 6 ans et 1 rotation de 9 ans ; différents types d'introduction des légumineuses (annuelles, cultures intermédiaires, luzerne sur 2 ans) ; pas de fertilisation exogène (sauf une rotation)
 Contact : francois.boissinot@pt.chambagri.fr

Archigny
 Depuis 2006
 14 ha (4 parcelles)
 4 systèmes de culture : une rotation classique de 8 ans avec labour systématique, 2 rotations de 7 ans avec travail du sol plus ou moins simplifié, 1 rotation courte de 3 ans avec travail du sol classique
 Contacts : thiery.quim@vienne.chambagri.fr ; agrobiop.projets@orange.fr

La Hourre
 Depuis 2001
 55 ha (7 parcelles)
 2 systèmes de culture : 1 rotation en sec, sur coteaux, de 4 à 5 ans ; 1 rotation en sec, sur terres de vallée, intégrant un soja une année sur deux ; utilisation modérée des fertilisants organiques du commerce
 Contact : auch.creab@voila.fr

Domaine de Melgueil
 Depuis 2008
 10 ha (10 parcelles)
 1 système de culture : 1 rotation de 7 ans (Luzerne 2 ans / Blé dur / Pois chiche / Blé dur (ou cultures associées) / Pois chiche / Blé dur) ; pas de fertilisation exogène
 Contacts : dominique.les-daux@supagro.inra.fr ; bruno.lorentz@supagro.inra.fr

La Motte
 Depuis 2003
 64 ha (8 parcelles)
 1 système de culture : 1 rotation de 8 ans (Luzerne (2 ans) / Blé / Sarasin / Féverole / Blé / mélange Pois-Céréale / Avoine nue) ; pas de fertilisation exogène
 Contacts : d.boutet@arvalisinstitutduvegetal.fr

Boigneville
 Depuis 2007
 4,7 ha (6 parcelles)
 1 système de culture : 1 rotation de 6 ans (Luzerne (2 ans) / Blé d'hiver / Lin / Féverole blanc avant le lin ; engrais vert de trèfle
 Contact : alt.toupe@arvalisinstitutduvegetal.fr

Plate-forme TAB
 Depuis 2012
 3,3 ha (11 parcelles)
 2 systèmes de culture : 1 rotation en sec de 5 ans ; 1 rotation irriguée de 6 ans ; cultures à forte valeur ajoutée (plantes à parfum, aromatiques et médicinales et production de semences) ; fertilisation exogène très limitée
 Contact : lcastel@drôme.chambagri.fr

Dunière
 Depuis 2000
 3 ha (5 parcelles)
 2 systèmes de culture : 1 rotation de 5 ans (Soja / Maïs / Vesce porte graines / Cobza / Blé d'hiver) ; 2 fertilisations annuelles en phosphore (0/60) ; couverture des sols avant cultures de printemps ; limitation des apports d'azote
 Contacts : jchampion@drôme.chambagri.fr

La Saussaye
 Depuis 2011
 18 ha (2 parcelles)
 2 systèmes de culture : 2 rotations de 10 ans : 1 « autonome » sans fertilisation exogène ; 1 « productive » sans limitation des interventions autorisées en AB
 Contacts : bruno.pomier@educagri.fr

Mirecourt
 Depuis 2004
 240 ha (90 parcelles)
 2 systèmes de culture : 1 système de polyculture élevage avec 4 rotations (6 ou 8 ans, avec ou sans cultures de printemps) ; 1 système herbager basé sur la prairie permanente ; apports de fertilisants organiques issus des systèmes
 Contact : xavier.coquil@mirecourt.inra.fr

Corbas
 Depuis 2012
 3 ha (4 parcelles)
 2 systèmes de culture : 1 système diversifié (couverts végétaux, association de culture, mélanges variétaux, rotation diversifiée de 6 ans) ; 1 système fertilisé (travail du sol réduit, couverture du sol maximale, rotation de 4 ans) ; pas de fertilisation exogène
 Contact : fionan.bellet@isara.fr

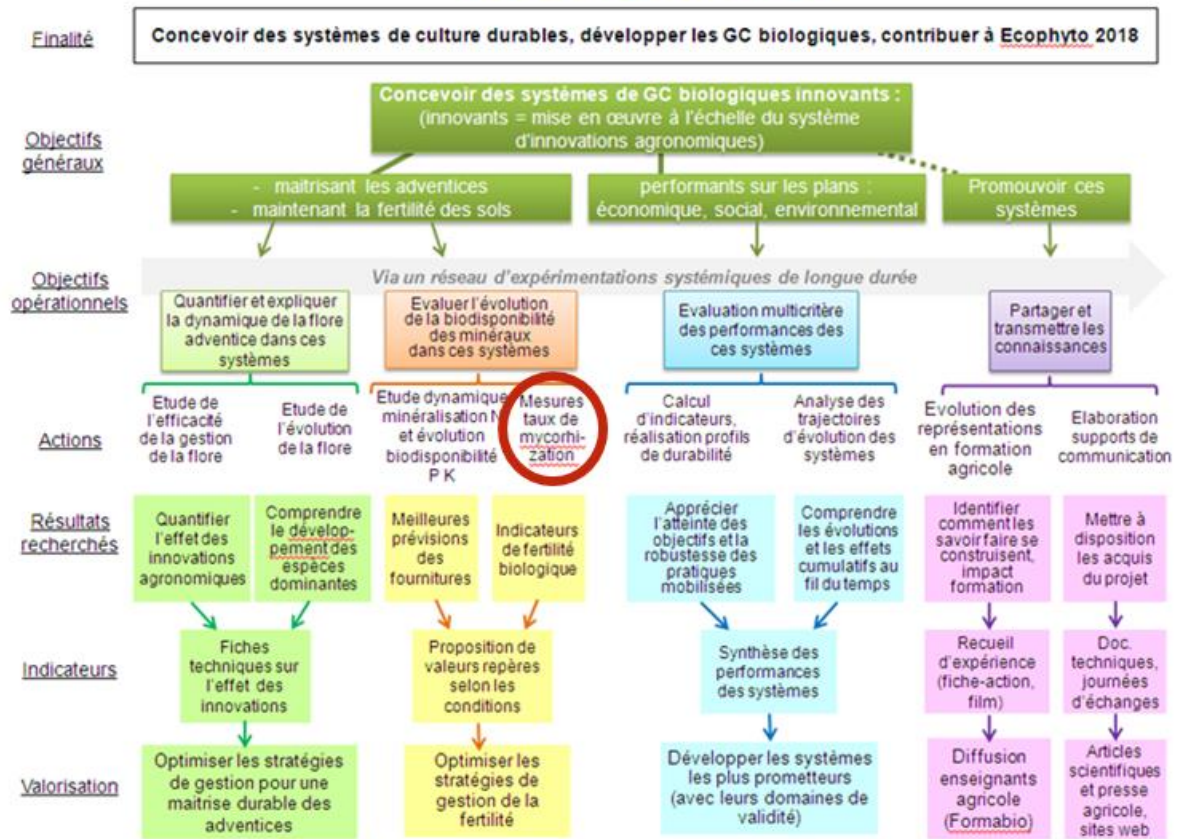
Légende :

- Système de grandes cultures spécialisé
- Système en polyculture élevage
- Dispositif en place depuis plus de 8 ans
- Dispositif en place depuis moins de 2 ans

La description détaillée de chaque site est disponible sur www.itab.asso.fr/itab/ressourtab.php

Annexe 2: Positionnement du volet 'Mycorhizes' dans le projet INNOV AB

INNOV'AB



Annexe 3 : Gestion de la fumure phosphatée à la Saussaye, la Hourre et Dunière (1/2)

*Régime de fertilisation phosphatée à la Saussaye

Gestion de la fertilité phosphatée du système				
Années	SA	Apports P tot (Kg/ha)	SP	Apports P tot (Kg/ha)
2010/2011 (Certification AB)	Aucun	Aucun	Fumier équin composté + Engrais organique	90
2011/2012	Aucun	Aucun	Fumier équin composté + Engrais organique	109,2
2012/2013	Aucun	Aucun	Fumier équin composté	50,6
2013/2014	Aucun	Aucun	Fumier équin composté + Engrais organique	69,8
2014/2015	Aucun	Aucun	Fumier équin composté	53,3
2015/2016	Aucun	Aucun	Fumier équin composté + Engrais organique	61
Sur 6 ans (2010-2016)	Apports moyen annuel Ptot (Kg/ha/an)	0	Facteur 70	72,3

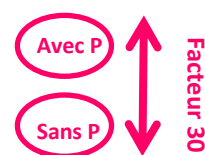
*Régime de fertilisation phosphatée à la Hourre

Gestion de la fertilité Phosphatée du système				
Années	SA	Apports P tot (Kg/ha)	SP	Apports P tot (Kg/ha)
1999/2000				
2000/2001	Plumes	0,0		
2001/2002 (certification AB)				
2002/2003	Plumes	0,0	Plumes	0,0
2003/2004				
2004/2005			Plumes	2,2
2005/2006	Plumes	2,5		
2006/2007			Plu+PAT	16,9
2007/2008				
2008/2009			PAT	45,4
2009/2010				
2010/2011			PAT+Fientes	25,9
2011/2012	PAT+Fientes	10,0		
2012/2013			PAT	73,3
2013/2014	PAT	40,0		
2014/2015				
Sur 16 ans (1999-2015)	Apports moyen annuel Ptot (Kg/ha/an)	3.28	Facteur 3	10.23

*Régime de fertilisation phosphatée à Dunière :

BILAN de la Gestion de la fertilité Phosphatée à Dunière (Parcelle P2)		
Total P apporté de 2000 à 2015 (Kg/ha)		
	Classique	520,27
	Innovant	355,03
Total P moyen apporté par an sur ces 16 ans (Kg/ha/an)		
	Classique	32,52
	Innovant	22,19
Total P apporté de 2006 à 2015 (Kg/ha)		
	Classique Avec P	315,60
	Classique Sans P	15,82
	Innovant Avec P	311,03
	Innovant Sans P	12,99
Total P moyen apporté par an depuis 2006 soit en 10 ans (Kg/ha/an)		
	Classique Avec P	31,56
	Classique Sans P	1,58
	Innovant Avec P	31,10
	Innovant Sans P	1,30

A partir de 2006 = mise en place Système Autonome (SA) et Système Productif (SP)



Annexe 3 : Gestion de la fumure phosphatée à la Saussaye, la Hourre et Dunière (2/2)

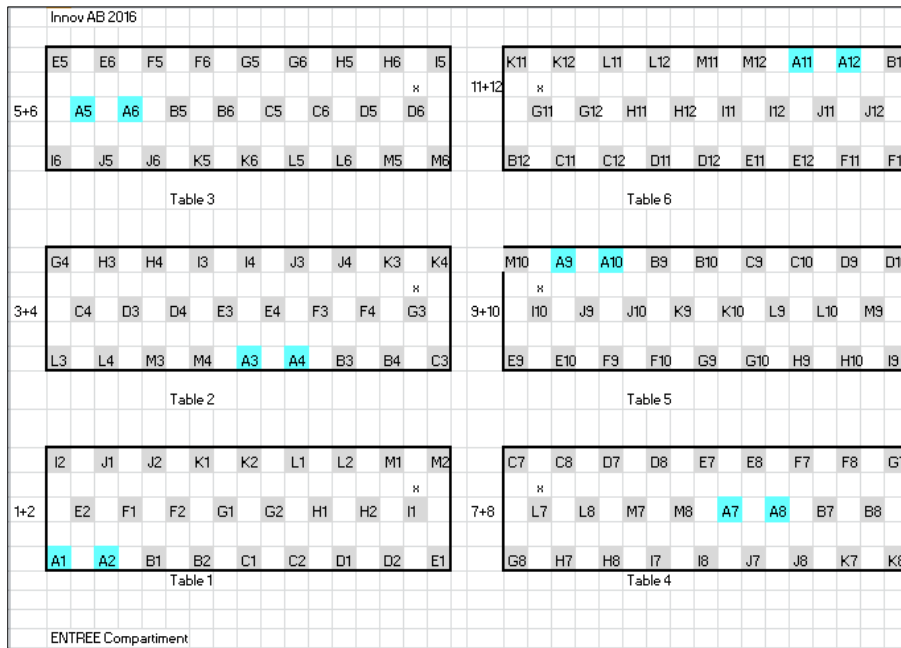
*Régime de fertilisation phosphatée à Dunière (Suite)

Gestion de la fertilité Phosphatée du système					
Années	Modalité de conduite culture	Type d'apports		Apports P tot (Kg/ha)	
2000/2001 (Certification AB)	Classique	Fumier composté de volailles		106.78	
	Innovant	Farine de plume		16.74	
2001/2002	Classique	Aucun		0	
	Innovant	Aucun		0	
2002/2003	Classique	Fumier de poulets de chair		71.50	
	Innovant	Fumier composté de volailles+ Farine de plume hydrolysée		14.27	
2003/2004	Classique	Aucun		0	
	Innovant	Aucun		0	
2004/2005	Classique	Aucun		0	
	Innovant	Aucun		0	
2005/2006	Classique	Farine de plume		10.6	
	Innovant	Aucun		0	
		SA	Apports P tot (Kg/ha)	SP	Apports P tot (Kg/ha)
2006/2007	Classique	Aucun	0	Farine de poisson	34.9
	Innovant	Aucun	0	Farine de poisson	34.9
2007/2008	Classique	Farine de plume hydrolysée	0	Farine d'oiseaux de mer+ Farine de plume hydrolysée	36.04
	Innovant	Farine de plume hydrolysée	0	Farine d'oiseaux de mer+ Farine de plume hydrolysée	36.04
2008/2009	Classique	Aucun ?	0	Soies de porcs	12.36
	Innovant	Aucun ?	0	Soies de porcs	12.36
2009/2010	Classique	Aucun	0	GUANO	30.84
	Innovant	Aucun	0	GUANO	30.84
2010/2011	Classique	Farine de plume	5.50	GUANO+ Farine de plume	31.96
	Innovant	Farine de plume	5.50	GUANO+ Farine de plume	31.96
2011/2012	Classique	Aucun	0	Farine de viande	32.22
	Innovant	Aucun	0	Farine de viande	32.22
2012/2013	Classique	Aucun	0	Guanito	26.01
	Innovant	Aucun	0	Guanito	26.01
2013/2014	Classique	Aucun	0	Guanito	30.84
	Innovant	Aucun	0	Guanito	30.84
2014/2015	Classique	Aucun	0	Guanito	37.02
	Innovant	Farine de plumes	3.95	Guanito	37.02
2015/2016	Classique	Engrais 10,76 - 2,88 - 0,7 (O)	10.32	Guanito+ Engrais 10,76 - 2,88 - 0,7 (O)	43.43
	Innovant	Ormendis	5.75	Guanito+Ormendis	38.86

Annexe 4 : Caractéristiques physico-chimiques des sols

Caractéristiques sol	Site de la Saussaye						Site de Dunière				Site de la Hourre	
	Système Autonome			Système Productif			Système Autonome		Système Productif		Système Autonome	Système Productif
	Sol 1	Sol 2	Sol 3	Sol 1	Sol 2	Sol 3	Classique	Innovant	Classique	Innovant	ZR11	ZR8
Argile (<2µm) (g/Kg)	281	373	265	318	399	243	209	230	179	196	408	313
Limons.Fins (2/20 µm) (g/Kg)	311	283	310	294	255	316	181	187	178	185	342	313
Limons.Grossiers (20/50 µm) (g/Kg)	364	287	370	344	237	390	292	304	310	307	95	127
Sables.Fins (50/200 µm) (g/Kg)	26	26	32	32	26	33	257	226	268	241	76	113
Sables.Grossiers (200/2000 µm) (g/Kg)	18	31	23	12	83	18	61	53	65	71	79	134
CEC (cmol+/Kg)	19,6	31,1	17,7	22,2	32,8	15,9	13,3	14,4	11,3	12,7	16,7	13,7
pH	7,86	8,36	7,26	7,94	8,35	7,31	7,45	7,81	7,47	7,92	8,4	8,53
C/N	10,4	10,2	10,3	11,3	11,6	10,5	9,87	9,49	9,5	9,68	8,13	10,3
MO (g/Kg)	24,8	29,3	23,5	29,7	36,9	22,6	21,8	19,8	18,0	20,1	18,6	22,8
N.Total (g N/Kg)	1,39	1,67	1,33	1,53	1,85	1,25	1,28	1,21	1,10	1,21	1,33	1,29
P.Organique (g P/Kg)	0,547	0,634	0,558	0,579	0,733	0,517	0,598	0,628	0,567	0,603	0,471	0,517
P.Mineral (g P/Kg)	0,833	1,056	0,672	0,961	1,107	0,813	0,872	0,752	0,843	0,857	1,019	1,113
P.Total (g P/Kg)	1,38	1,69	1,23	1,54	1,84	1,33	1,47	1,38	1,41	1,46	1,49	1,63
P.Olsen_2016 (g P2O5/Kg)	0,062	0,086	0,033	0,085	0,101	0,066	0,024	0,009	0,035	0,023	0,023	0,024

Annexe 5 : Plan du dispositif en serre



Dispositif en serre

-Répartition des pots = 6 tables.

-Les pots d'une modalité sont présents: 2 fois sur la 1^{ière} ligne, 2 fois sur la 2^{ième} ligne, 2 fois sur la 3^{ième} ligne,

-Alternance des modalités des différents sols afin de se soustraire à effet de voisinage

La mise en couleur des pots "A" ci-contre est présente pour illustrer ces consignes de disposition.

+ 1 pot par table sans sols (PPP= polypropylène copo 7011 L1) figuré par une croix « x »

LEGENDE :

Lieu	Modalités	Correspondance	Nb pots
La Saussaye	SA sol1	A	12
La Saussaye	SA sol2	B	12
La Saussaye	SA sol3	C	12
La Saussaye	SP sol1	D	12
La Saussaye	SP sol2	E	12
La Saussaye	SP sol3	F	12
La Hourre	ZR 8	G	12
La Hourre	ZR 11	H	12
	P2 SP		
Etoile	Innovant	I	12
	P2 SA		
Etoile	Innovant	J	12
	P2 SA		
Etoile	Classique	K	12
	P2 SP		
Etoile	Classique	L	12
Auzeville	(Pour Entrainement)	M	12

Tot : 156

Annexe 6: Protocole détaillé et illustré de la récolte des pois (1/2) [Photos : ©Diane Rivaton, 2016]

1) Enlever la pochette plastique et le panier



Mettre des gants pour ne pas contaminer le prélèvement destiné aux analyses ADN-ARN

2) Couper sous le résidu de la graine à ras du sol



3) Partie aérienne → Pochettes Kraft → étuve à 80°C pendant 48h (pour pesée poids sec et analyses N et P)



4) Prélèvement sol pot → piluler → Congélateur à -80°C (pour conservation au cas où pou de futures études sur ADN du sol)



Partie aérienne



Partie racinaire



5) Dépoter



6) Déposer délicatement la motte à l'horizontale



7) A l'aide d'une douchette faire fondre la terre enveloppant le système racinaire puis Laver le système racinaire en faisant 3 bains de rinçage pour obtenir un système racinaire propre



Lavage avec douchette



Motte de terre en train de fondre sous l'action de la douchette et libérant le système racinaire



Station de lavage



Bains successifs de lavage manuel



Obtention d'un système racinaire propre



Nettoyage: les résidus sont enlevés manuellement

8) Séchage du système racinaire entre 2 feuilles de papier absorbant



9) Pesée du système racinaire frais en entier



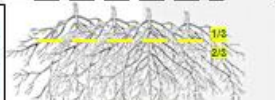
Notez la valeur de la pesée



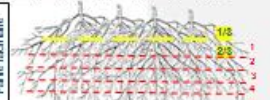
Utilisez une boîte de pétri pour peser, la boîte est jetée et remplacée par une nouvelle pour chacun des sols testés

10) Coupez le système racinaire pour le fractionner en 1/3 - 2/3 afin de bien évaluer ce fractionnement tant que ce système racinaire est entier. Puis, Couper les 2/3 inférieur en 5 fractions (- -) à l'aide d'une règle (ou de la bordure d'un support pour épendorf) et d'un scalpel

Partie racinaire



Partie racinaire



Annexe 6: Protocole détaillé et illustré de la récolte des pois (2/2) [Photos : ©Diane Rivaton, 2016]

11) Aliquote ARN+ADN: Prélevez quelques fragments de manière aléatoire dans chacune des 5 fractions (pour une meilleure randomisation) à l'aide d'une pince

Prélevez



Pesez la fraction prélevée



Fermez la papillote d'aluminium



Mettez la papillote d'aluminium dans l'azote liquide (-196°C) → Congélateur à -80°C



Notez la valeur de la pesée



12) Aliquote Mycorhization/Arbuscules: Prélevez quelques fragments de manière aléatoire dans chacune des 5 fractions (pour une meilleure randomisation) à l'aide d'une pince

Prélevez



Pesez la fraction prélevée



Fermez le pilulier




Mettez le pilulier dans la glace pendant le temps de la manipulation → Congélateur à -20°C



13) Reste du système racinaire → pochettes plastiques → Mettre dans la glace pendant le temps de la manipulation → Congélateur à -20°C

(cette partie sera destinée à passer à l'étuve (Rochettes Kraft → étuve à 80°C pendant 45h (pour pesée poids sec et analyses N et P) pour la biomasse racinaire mais elle est conservée par congélation dans un premier temps, tant que les observations mycorhization/arbuscules ne sont pas terminées afin de s'assurer d'avoir du matériel d'étude si nécessaire)



14) Laver à l'eau l'ensemble du matériel utilisé pour ce pot avant de refaire ces étapes pour le pot suivant

Annexe 7 : Protocole de Coloration et observation des Mycorhize (d'après Vierheilig *et al.*, 1998. et adapté par Diane Rivaton)

Prélèvements des racines :

-Prendre l'aliquote de racine destinée à cette observation qui a été congelé dans un pilulier lors de la récolte des plantes pièges et le faire décongeler en ajoutant de l'eau distillée à T°C ambiante

-A l'aide d'une pissette d'eau distillée, récupérez l'ensemble du contenu du pilulier et le versez dans un couvercle en verre

-A l'aide d'un scalpel, d'une pince et d'un couvercle en verre, découper les racines en tronçons de 2-3 cm environ

Coloration encre Shaeffer (Vierheilig *et al.*, 1998) dans les caissettes de coloration :

-Réglez le bain marie à 90°C

-Mettre dans le bain marie 1) le bocal de solution de KOH 10% et 2) le bocal de solution de coloration (5% encre Shaeffer et 5% acide acétique)

-Dans chacune des caissettes, mettre un échantillon de fragments de racines découpées à colorer, et attachez ensemble les différentes caissettes avec un fil de fer fin

-Quand les solutions dans les bocaux sont à 90°C, mettre les caissettes dans la solution de KOH et laissez incube 10 min.

-Après ce temps, rincez les caissettes dans 1 bain d'eau distillée froide

-Placez ensuite les caissettes dans la solution de coloration (5% encre Shaeffer et 5% acide acétique), laissez incuber pendant un temps égal à l'incubation dans le KOH, soit 10 min.

-Une fois colorées, rincez à nouveau les caissettes dans 1 bain d'eau distillée froide,

-Puis, terminez par un dernier bain dans la solution de décoloration à 2% d'acide acétique pendant 24h

-Rincez ensuite dans un dernier bain d'eau distillée froide, puis monter entre lames et lamelles pour observation

Observation mycorhization :

Pour chacune des caissettes :

-Prélevez aléatoirement 30 fragments de racines colorés

-Positionnez 10 fragments par lames où ont été tracé 2 lignes distantes de 1 cm

-Pour l'observation, monter entre lames et lamelles dans une goutte d'eau glycinée (50%eau+50%glycérol) et passer un trait de vernis transparent sur le contour pour une longue conservation observez sous microscope optique (X 100) pour compter les arbuscules et sous binoculaire (X 20) pour déterminer la colonisation racinaire par les mycorhizes.

Annexe 8: Protocole d'extraction des spores de CMA par tamisage par voie humide (adapté de Gerdemann et Nicholson, 1963)

-Pesez 40g de sol

-Alignez les 3 tamis dans le lavabo (du haut vers le bas : 630 μm \rightarrow 180 μm \rightarrow 45 μm)

-Pour enlever les grumeaux de terre, mettre les 40g de sol dans un bécher de 1L et complétez ce litre avec de l'eau du robinet ; mettre un barreau aimanté et mettre sur l'agitateur pendant 30 min

- Passez la solution sur la colonne des 3 tamis

-Tamis 630 μm : à jeter car il retient les résidus (paille, cailloux, ..) et à retirer

-Tamis 180 μm : le récupérer dans un bécher décantation de 3L

-Tamis 45 μm : le récupérer dans un bécher décantation de 3L

-Pour le premier bécher de décantation : complétez les 3L du bécher avec de l'eau, agiter 1 min, laisser décanter 1 min, et versez à nouveau sur la colonne des 2 tamis. Récupérez le contenu des 2 tamis, remettre dans un bécher de décantation de 3L, le compléter avec de l'eau, agiter 30 s, laissez décanter 30s, et versez à nouveau sur la colonne des 2 tamis. Récupérez le contenu des 2 tamis, remettre dans un bécher de décantation de 3L, le compléter avec de l'eau, agitez 15s, laissez décanter 15s, et verser à nouveau sur la colonne des 2 tamis. Récupérez dans un tube Falcon le contenu du tamis 180 μm , et récupérez dans un autre tube Falcon le contenu du tamis 45 μm .

-Faire de même avec l'autre bécher de décantation

-Rassemblez dans un même tube Falcon ce qui correspond au tamis 180 μm et faire de même pour les récoltes du tamis 45 μm , ajoutez de l'eau de façon à atteindre 20 mL

-Complétez les 2 tubes Falcon avec 20 mL de glycérol à 50% (v/v)

-Centrifugez pendant 3 min à 2170 rpm

-Prélevez le surnageant avec une pipette jaugée et remettre dans le plus petit tamis et rincez pour enlever le glycérol résiduel

-Récoltez les spores et observer sur boîte de pétri sous loupe binoculaire

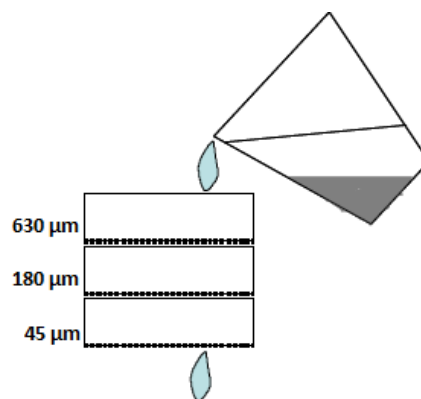


ILLUSTRATION SCHEMATIQUE DU TAMISAGE PAR VOIE HUMIDE (ADAPTE DE GERDEMANN ET NICHOLSON, 1963)

Annexe 9: Effet système (Autonome vs Productif) sur le taux de mycorhization et le nombre d'arbuscules

Arb	Myco
Nb moyen d'arbuscules dans le système racinaire (teneur moyenne en arbuscule par cm de racine)	Intensité de la colonisation mycorhizienne du cortex racinaire (proportion du cortex colonisé estimée et exprimée en %)

Site	Système	Paramètres analysés		Test	Significativité	
		Arb	Myco			
Intra-Sites	Saussaye	Autonome S1	119,5±37,7	35,5±10,7	AutonomeS1 vs ProductifS1	*
	Saussaye	Productif S1	61,1±37,4	20,2±12,3	AutonomeS2 vs ProductifS2	**
	Saussaye	Autonome S2	133,6±19,2	41,9±4,1	AutonomeS3 vs ProductifS3	NS
	Saussaye	Productif S2	85,5±22,7	24,7±5,3	AutonomeS1 vs AutonomeS2 vs AutonomeS3	*,AutonomeS2-AutonomeS3
	Saussaye	Autonome S3	93,6±18,8	28,9±6,1	ProductifS1 vs ProductifS2 vs ProductifS3	NS
	Saussaye	Productif S3	95,6±41,9	27,9±12,2	AutonomeSausseye vs ProductifSausseye	**
	Hourre	Autonome	183,9±81,1	49,1±5,4	AutonomeHeure vs ProductifHeure	NS
	Hourre	Productif	151,5±42,5	52,5±8,7		NS
	Dunierre	Autonome Classique	143,2±18,8	45±8,0	AutonomeClassique vs ProductifClassique	NS
	Dunierre	Productif Classique	124,8±37,4	39,4±10,7	AutonomeInnovant vs ProductifInnovant	*
	Dunierre	Autonome Innovant	166,1±25,6	53,8±4,6	AutonomeClassique vs AutonomeInnovant	NS
	Dunierre	Productif Innovant	115,2±31,6	39,7±9,4	ProductifClassique vs ProductifInnovant	NS
	Saussaye	Autonome	115,5±30,4	35,5±8,9	AutonomeDunierre vs ProductifDunierre	*
	Hourre	Autonome	183,9±81,1	49,1±5,4	AutonomeHeure vs AutonomeSausseye vs AutonomeDunierre	**
	Dunierre	Autonome	154,6±24,5	49,4±7,7	AutonomeSausseye-AutonomeDunierre	AutonomeSausseye-AutonomeHeure
Inter-Sites	Saussaye	Productif	80,7±36,1	24,3±10,4	ProductifHeure vs ProductifSausseye vs ProductifDunierre	**
	Hourre	Productif	151,5±42,5	52,5±8,7	ProductifHeure vs ProductifSausseye vs ProductifHeure	**
	Dunierre	Productif	120,0±33,4	39,6±9,6	ProductifSausseye-AutonomeDunierre	ProductifSausseye-AutonomeHeure
	Saussaye-Hourre-Dunierre	Autonome	140,0±47,8	42,4±10,5	Autonome vs Productif	**
Saussaye-Hourre-Dunierre	Productif	105,6±44,6	34,1±14,5		**	

Moyenne ± Ecart-type (n=6)

Tests statistiques (R), Wilcoxon test, et kruskal.test suivi pairwise.wilcoxon.test avec critère significativité corrigé par la correction de Bonferroni ($\alpha/k=0,016667$),

"*" = $p < 0,05$; "**" = $p < 0,01$; "****" = $p < 0,0001$; "*****" = $p < 0,00001$; NS = Non Significatif

Annexe 10 : Effet système (Autonome vs Productif) sur la teneur en P des pois

Teneur.P.Aerien	Teneur.P.Racines	Teneur.P.Tot.Plante
Teneur en Phosphore total de la partie aérienne des pois (en g de P/Kg)	Teneur en Phosphore total de la partie racinaire des pois (en g de P/Kg)	Teneur en Phosphore dans l'ensemble "aérien+racine" des pois (en g de P/Kg)

Site	Système	Autre modalités			Paramètres analysés			Test	Significativité		
		Teneur.P.Aerien	Teneur.P.Racines	Teneur.P.Tot.Plante	Teneur.P.Aerien	Teneur.P.Racines	Teneur.P.Tot.Plante		Teneur.P.Aerien	Teneur.P.Racines	Teneur.P.Tot.Plante
Intra-Sites	Saussaye	Autonome S1	2,48±0,11	2,76±0,15	2,71±0,13	AutonomeS1 vs ProductifS1	NS	NS	NS	NS	NS
	Saussaye	Productif S1	2,35±0,18	2,52±0,34	2,49±0,30	AutonomeS2 vs ProductifS2	NS	NS	NS	NS	NS
	Saussaye	Autonome S2	2,43±0,19	2,57±0,39	2,54±0,32	AutonomeS3 vs ProductifS3	**	**	**	**	**
	Saussaye	Productif S2	2,37±0,12	2,57±0,29	2,53±0,25	AutonomeS1 vs AutonomeS2 vs AutonomeS3	NS	NS	NS	NS	NS
	Saussaye	Autonome S3	1,85±0,14	2,23±0,24	2,15±0,21	ProductifS1 vs ProductifS2 vs ProductifS3	NS	NS	NS	NS	NS
	Saussaye	Productif S3	2,61±0,17	2,92±0,18	2,88±0,17	AutonomeSausseye vs ProductifSausseye	NS	NS	NS	NS	NS
	Heure	Autonome	2,04±0,19	2,64±0,34	2,52±0,30	AutonomeHeure vs ProductifHeure	*	*	*	*	*
	Heure	Productif	2,50±0,20	2,70±0,26	2,67±0,24						
	Duniere	Autonome Classique	2,30±0,09	2,88±0,26	2,78±0,21	AutonomeClassique vs ProductifClassique	NS	NS	NS	NS	NS
	Duniere	Productif Classique	2,33±0,44	2,75±0,38	2,68±0,29	AutonomeInnovant vs ProductifInnovant	**	*	**	*	**
	Duniere	Autonome Innovant	1,53±0,19	1,92±0,42	1,86±0,36	AutonomeClassique vs AutonomeInnovant	**	**	**	**	**
	Duniere	Productif Innovant	2,32±0,17	2,67±0,28	2,61±0,21	ProductifClassique vs ProductifInnovant	NS	NS	NS	NS	NS
Inter-Sites	Saussaye	Autonome	2,25±0,32	2,52±0,34	2,47±0,33	AutonomeDuniere vs ProductifDuniere	*	*	*	*	*
	Heure	Autonome	2,04±0,19	2,64±0,34	2,52±0,30	AutonomeHeure vs AutonomeSausseye vs AutonomeDuniere	NS	NS	NS	NS	NS
	Duniere	Autonome	1,92±0,42	2,40±0,60	2,32±0,56						
	Saussaye	Productif	2,44±0,19	2,67±0,32	2,63±0,29	ProductifHeure vs ProductifSausseye vs ProductifDuniere	NS	NS	NS	NS	NS
	Heure	Productif	2,50±0,20	2,70±0,26	2,67±0,24						
	Duniere	Productif	2,32±0,32	2,71±0,32	2,64±0,24						
	Saussaye-Heure-Duniere	Autonome	2,10±0,37	2,50±0,44	2,43±0,41	Autonome vs Productif	***	***	***	***	*
	Saussaye-Heure-Duniere	Productif	2,41±0,24	2,69±0,30	2,64±0,26						

Moyenne ± Ecart-type (n=6)

Tests statistiques (R), Wilcoxon.test, et kruskal.test suivi pairwise.wilcoxon.test avec critère significativité corrigé par la correction de Bonferoni (α/k=0,0166667).

***" = p<0,05 ; "**" = p<0,01 ; "*" = p<0,05 ; "NS" = Non Significatif

Annexe 11 : Effet système (Autonome vs Productif) sur la biomasse des pois

Pds.Sec.Biom.Aerien	Pds.Sec.Biom.Racines	Pds.Sec.Tot.Plante
Poids sec de la partie aérienne des pois (exprimé en g)	Poids sec de la partie racinaire des pois (exprimé en g)	Poids sec de l'ensemble de la plante pois: Aérien + Racines (exprimé en g)

Site	Système	Autre modalités	Paramètres analysés			Test	Significativité		
			Pds.Sec.Biom.Aerien	Pds.Sec.Biom.Racines	Pds.Sec.Tot.Plante		Pds.Sec.Biom.Aerien	Pds.Sec.Biom.Racines	Pds.Sec.Tot.Plante
Intra-Sites	Saussaye	Autonome	4,35±0,53	0,89±0,24	5,24±0,73	AutonomeS1 vs ProductifS1	NS	NS	NS
	Saussaye	Productif	4,11±0,15	0,91±0,10	5,02±0,19	AutonomeS2 vs ProductifS2	NS	NS	NS
	Saussaye	Autonome	4,34±0,56	0,99±0,18	5,33±0,70	AutonomeS3 vs ProductifS3	*	NS	NS
	Saussaye	Productif	4,10±0,50	0,93±0,14	5,03±0,62	AutonomeS1 vs AutonomeS2 vs AutonomeS3	NS	NS	NS
	Saussaye	Autonome	4,29±0,24	1,04±0,11	5,34±0,33	ProductifS1 vs ProductifS2 vs ProductifS3	NS	NS	NS
	Saussaye	Productif	4,72±0,34	0,76±0,13	5,48±0,41	AutonomeSaussaye vs ProductifSaussaye	NS	NS	NS
	Heure	Autonome	3,37±0,53	0,85±0,14	4,23±0,65	AutonomeHeure vs ProductifHeure	NS	NS	NS
	Heure	Productif	3,30±0,30	0,64±0,13	3,93±0,43		NS	NS	NS
	Dunierie	Autonome	3,76±0,26	0,74±0,10	4,50±0,31	AutonomeClassique vs ProductifClassique	NS	NS	NS
	Dunierie	Productif	3,54±0,14	0,68±0,07	4,22±0,19	AutonomeInnovant vs ProductifInnovant	NS	NS	NS
	Dunierie	Autonome	3,43±0,44	0,75±0,15	4,18±0,54	AutonomeClassique vs AutonomeInnovant	NS	NS	NS
	Dunierie	Productif	3,52±0,16	0,72±0,10	4,24±0,21	ProductifClassique vs ProductifInnovant	NS	NS	NS
	Saussaye	Autonome	4,33±0,44	0,98±0,18	5,30±0,58	AutonomeHeure vs AutonomeSaussaye vs AutonomeDunierie	***,AutonomeSaussaye>AutonomeHeure et AutonomeSaussaye>AutonomeDunierie	***,AutonomeSaussaye>AutonomeHeure et AutonomeSaussaye>AutonomeDunierie	***,AutonomeSaussaye>AutonomeHeure et AutonomeSaussaye>AutonomeDunierie
	Heure	Autonome	3,37±0,53	0,85±0,14	4,23±0,65		NS	NS	NS
	Dunierie	Autonome	3,60±0,39	0,74±0,12	4,34±0,45		NS	NS	NS
Inter-Sites	Saussaye	Productif	4,31±0,45	0,87±0,14	5,18±0,47	ProductifHeure vs ProductifSaussaye vs ProductifDunierie	***,ProductifSaussaye>ProductifHeure et ProductifSaussaye>ProductifDunierie	***,ProductifSaussaye>ProductifHeure et ProductifSaussaye>ProductifDunierie	***,ProductifSaussaye>ProductifHeure et ProductifSaussaye>ProductifDunierie
	Heure	Productif	3,30±0,30	0,64±0,13	3,93±0,43		NS	NS	NS
	Dunierie	Productif	3,53±0,14	0,70±0,09	4,23±0,19		NS	NS	NS
Bien	Saussaye-Heure-Dunierie	Autonome	3,92±0,59	0,88±0,19	4,80±0,74	Autonome vs Productif	NS	NS	NS
	Saussaye-Heure-Dunierie	Productif	3,88±0,56	0,77±0,16	4,65±0,66		NS	NS	NS

Moyenne ± Ecart-type (n=6)

Tests statistiques (R), t-test et ANOVA suivie Turkey, HSD avec critère significativité au seuil de la correction de Bonferroni ($\alpha/k=0,016667$, avec $\alpha=0,05$; $k=3$),
 "**" = $p<0,05$; "***" = $p<0,01$; "****" = $p<0,001$; NS = Non Significatif

Annexe 12 : Effet système (Autonome vs Productif) sur la teneur en N des pois

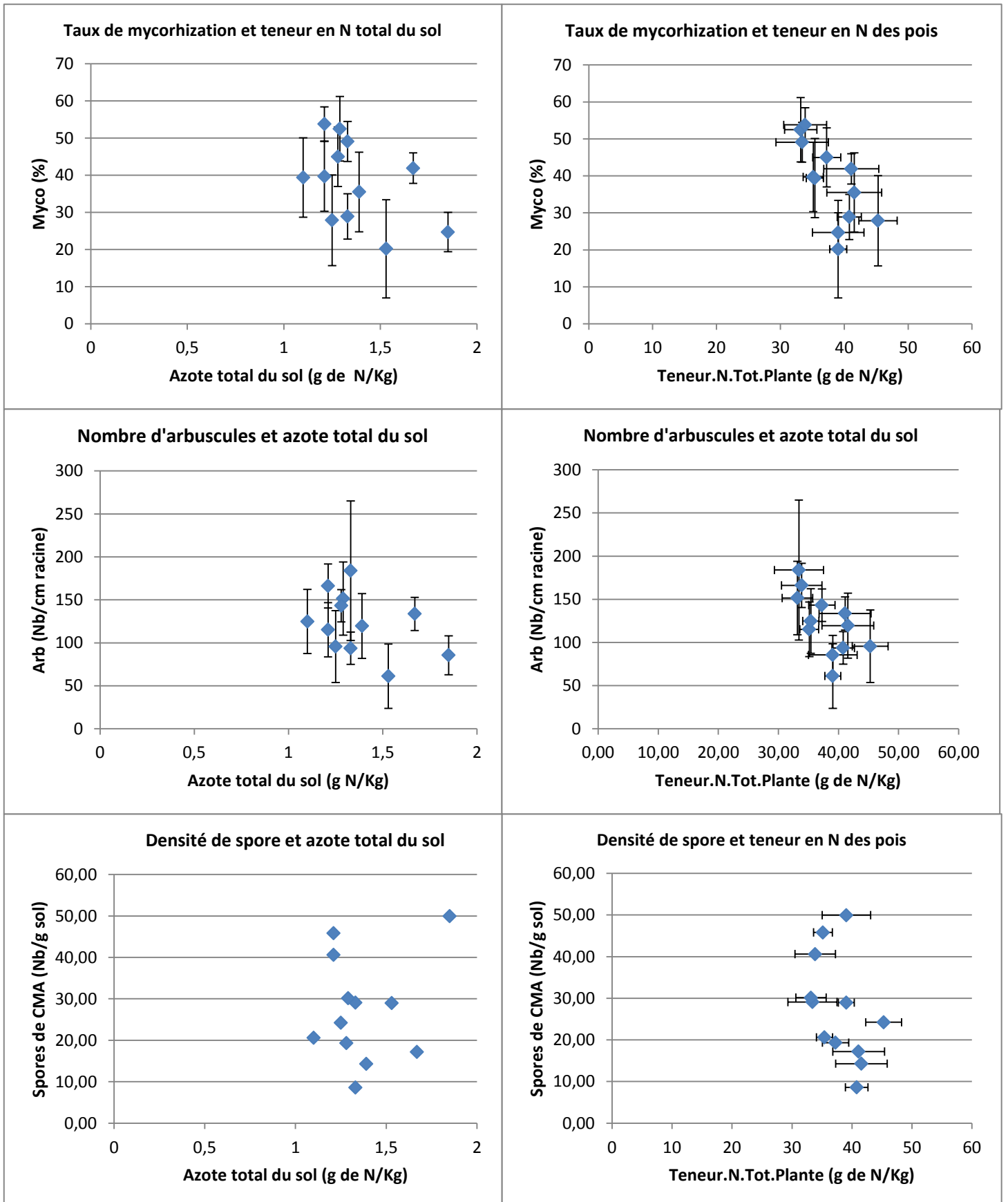
Teneur.N.Aerien	Teneur.N.Racines	Teneur.N.Tot.Plante
Teneur en Azote total de la partie aérienne des pois (en g de N/Kg)	Teneur en Azote total de la partie racinaire des pois (en g de N/Kg)	Teneur en Azote total dans l'ensemble "aérien+racine" des pois (en g de N/Kg)

Site	Système	Autre modalités			Paramètres analysés			Test	Significativité		
		Teneur.N.Aerien	Teneur.N.Racines	Teneur.N.Tot.Plante	Teneur.N.Aerien	Teneur.N.Racines	Teneur.N.Tot.Plante		Teneur.N.Aerien	Teneur.N.Racines	Teneur.N.Tot.Plante
Intra-Sites	Saussaye	43,47±5,31	32,48±0,64	41,57±4,30	AutonomeS1 vs ProductifS1	NS	**	NS	NS	NS	
	Saussaye	41,08±1,49	29,84±1,00	39,05±1,33	AutonomeS2 vs ProductifS2	NS	NS	NS	NS	NS	
	Saussaye	43,37±5,55	31,20±1,33	41,11±4,32	AutonomeS3 vs ProductifS3	NS	*	NS	*	*	
	Saussaye	40,97±4,99	30,63±1,11	39,06±4,04	AutonomeS1 vs AutonomeS3	NS	NS	NS	NS	NS	
	Saussaye	42,93±2,42	31,98±1,00	40,79±1,88	ProductifS1 vs ProductifS2 vs ProductifS3	NS	**	**	**	**	
	Saussaye	47,20±3,42	33,39±0,83	45,29±2,98	AutonomeSausseye vs ProductifSausseye	NS	NS	NS	NS	NS	
	Hourre	33,73±5,31	32,06±0,95	33,42±4,09	AutonomeHourre vs ProductifHourre	NS	*	NS	NS	NS	
	Hourre	32,97±3,00	34,53±1,80	33,17±2,53	AutonomeClassique vs ProductifClassique	NS	NS	NS	NS	NS	
	Duniere	37,63±2,64	35,17±1,79	37,25±2,19	AutonomeInnovant vs ProductifInnovant	NS	*	NS	NS	NS	
	Duniere	35,38±1,42	35,47±1,59	35,40±1,35	AutonomeClassique vs AutonomeInnovant	NS	*	NS	NS	NS	
	Duniere	34,32±4,42	31,78±1,81	33,87±3,37	ProductifClassique vs ProductifInnovant	NS	NS	NS	NS	NS	
	Duniere	35,15±1,55	35,09±2,45	35,15±1,57	AutonomeDuniere vs ProductifDuniere	NS	NS	NS	NS	NS	
Inter-Sites	Saussaye	43,26±4,37	31,89±1,11	41,15±3,47	AutonomeHourre vs AutonomeSausseye vs AutonomeDuniere	***	***	***	***	***	
	Hourre	33,73±5,31	32,06±0,95	33,42±4,09	ProductifHourre vs ProductifSausseye vs ProductifDuniere	***	***	***	***	***	
	Duniere	35,98±3,88	33,48±2,47	35,56±3,23	AutonomeHourre vs ProductifHourre	***	***	***	***	***	
	Saussaye	43,08±4,52	31,29±1,83	41,13±4,13	AutonomeHourre vs ProductifHourre	***	***	***	***	***	
	Hourre	32,97±3,00	34,53±1,80	33,17±2,53	ProductifSausseye vs ProductifDuniere	***	***	***	***	***	
	Duniere	35,27±1,42	35,28±1,98	35,27±1,40	ProductifSausseye vs ProductifDuniere	***	***	***	***	***	
	Saussaye	39,24±5,93	32,45±1,79	38,00±4,72	Autonome vs Productif	NS	NS	NS	NS	NS	
	Hourre	38,79±5,60	33,16±2,64	37,85±4,63							
	Duniere										
	Bilan										

Moyenne ± Ecart-type (n=6)

Tests statistiques (R), Wilcoxon test, et kruskal.test suivi pairwise.wilcoxon.test avec critère significativité corrigé par la correction de Bonferroni ($\alpha/k=0,016667$),
 "****" = p<0,001 ; "****" = p<0,01 ; "****" = p<0,001 ; NS = Non Significatif

Annexe 13 : Taux de mycorhization, nombre d'arbuscules et densité de spore de CMA, en fonction de la teneur en N total du sol ou de la teneur en N des pois



Annexe 14 : Effet système (Autonome vs Productif) sur le nombre de spores et de morphotypes de CMA

	Site	Système	Paramètres analysés		Test	Significativité	
			Nb.Spores_Tot	Nb.Morphotypes		Nb.Spores_Tot (1)	Nb.Morphotypes (2)
Bilan	Saussaye-Hourre-Duniere	Autonome	21,52±11,53	8,83±0,41	Autonome vs Productif	*	*
	Saussaye-Hourre-Duniere	Productif	33,29±11,88	11,00±1,79			

Moyenne ± Ecart-type, issue du comptage de chacun des 6 sols en 'Autonome' et des 6 sols en 'Productif'

Tests statistiques (R), (1) Transformation par log puis t.test; (2) wilcox.test

"*" = p<0,05 ; "***" = p<0,01 ; "****" = p<0,001 ; NS = Non Significatif









	Site	Système	Paramètres analysés		Test	Significativité	
			Nb.Spores_Tot	Nb.Morphotypes		Nb.Spores_Tot (1)	Nb.Morphotypes (2)
Sausseye	Sausseye	Autonome	13,37±4,37	8,67±0,58	Autonome vs Productif	*	NS
	Sausseye	Productif	34,39±13,69	12,33±1,53			

Moyenne ± Ecart-type, issue du comptage de chacun des 3 sols de la Sausseye en 'Autonome' et des 3 sols de la Sausseye en 'Productif'

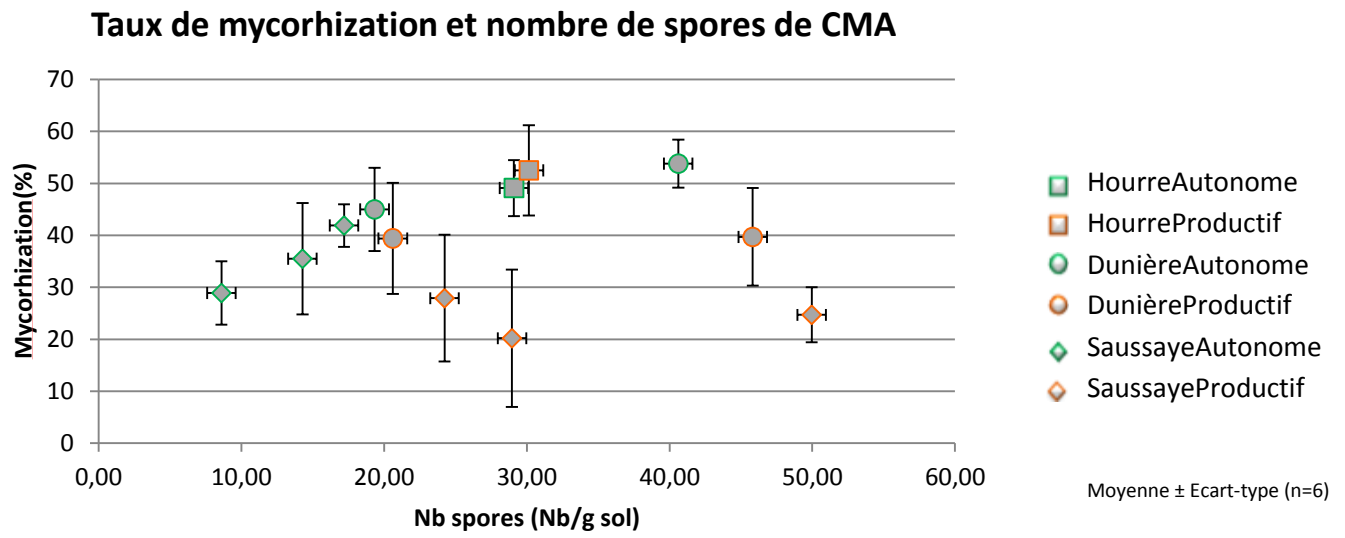
Tests statistiques (R), (1) Transformation par log puis t.test; (2) wilcox.test

"*" = p<0,05 ; "***" = p<0,01 ; "****" = p<0,001 ; NS = Non Significatif

Annexe 15 : Morphotypes de CMA identifiées au sein du site de la Saussaye

Morphotypes (Forme,Texture,Couleur)	Photos		Sol 1		Sol 2		Sol 3		Sol 1		Sol 2		Sol 3	
			A45	A180	B45	B180	C45	C180	D45	D180	E45	E180	F45	F180
Globose lisse hyaline		1	○	○	○	○	○			○	○	○	○	
Globose lisse hyaline à point rouge		2			○						○			
Subglobose lisse crème		3							○	○			○	○
Globose lisse jaune claire		4			○	○		○		○	○	○		
Subglobose lisse marron-jaune claire		5												○
Subglobose verruqueux marron-jaune		6		○										
Globose lisse marron-jaune		7								○				
Subglobose verruqueuse marron-jaune claire		8					○			○			○	○
Globose lisse marron-orange claire		9	○	○			○			○	○			
Globose lisse marron claire		10							○			○		
Globose lisse marron claire		11		○										
Subglobose lisse rouge		12	○											
Subglobose verruqueuse marron		13										○		
Globose réticulée marron-jaune foncé		14			○		○		○	○	○		○	○
Globose lisse marron-jaune foncé		15			○		○		○					
Globose lisse marron-orange foncé		16		○						○		○		○
Globose duveteuse marron-rouge foncée		17	○										○	
Globose duveteuse marron foncé		18			○	○	○	○	○	○	○		○	
Tot			9		9		8		14		11		12	

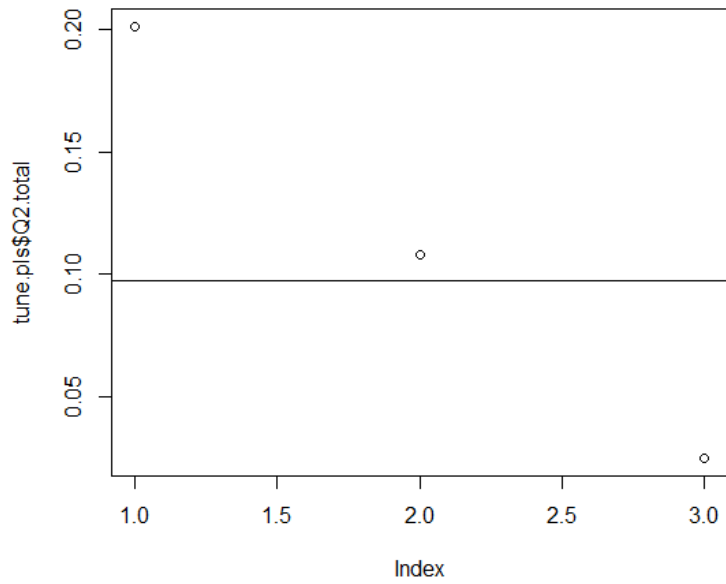
Annexe 16 : Taux de mycorhization en fonction du nombre de spores de CMA




Annexe 17: Test du Q2 de la méthode PLS

Nombre d'axe à retenir : ici axe 1 et 2 à retenir car il y a 2 ronds au-dessus de la ligne.

```
> tune.pls = perf(plsregN, validation="Mfold", folds=5, criterion="all", progressBar=F)
> plot(tune.pls$Q2.total)
> abline(h=0.0975)
```



	<p>Diplôme : Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage</p> <p>Spécialité : Génie de l'Environnement</p> <p>Spécialisation / option : PAM-EQ</p> <p>Enseignant référent : Manuel Plantegenest</p>
<p>Auteur: Diane Rivaton</p>	<p>Organisme d'accueil : Isara Lyon, 23 rue Jean Baldassini, 69364 Lyon</p>
<p>Date de naissance : 26 Décembre 1992</p>	<p>Lieu de stage : INRA, UMR AGIR (Agroécologie, Innovations et Territoires)</p>
<p>Nb pages (avec bibliographie): 37 Annexe(s) : 17</p>	<p>24, chemin de Borde-Rouge CS 52627</p>
<p>Année de soutenance : 2016</p>	<p>31326 Castanet Tolosan Cedex</p>
	<p>Maître de stage : Claire Jouany Co-encadrant : Jean-François Vian</p>
<p>Titre: Etude des champignons mycorhiziens arbusculaires des sols en systèmes de grandes cultures biologiques sans élevage. Application à la nutrition phosphatée.</p>	
<p>Title: Soil arbuscular mycorrhizal fungi assessment in organic stockless farming systems. Focus on Phosphorus nutrition.</p>	
<p>Résumé: La plupart des plantes terrestres, dont une majorité de cultures, vivent en symbiose avec des Champignons Mycorhiziens Arbusculaires (CMA). Cette symbiose permet à la culture un meilleur accès aux minéraux, notamment au phosphore, principal élément dont la biodisponibilité dans les sols tend à diminuer dans les systèmes de culture biologiques (AB). Dans les systèmes AB sans élevage la gestion de la fertilité phosphatée est une question centrale du fait de l'interdiction d'intrants de synthèse et de l'absence de la ressource en amendements organiques issus des effluents d'élevage. Ces systèmes sont alors davantage dépendants des voies de recyclage biologique telles que la symbiose avec les CMA. Dans le cadre du volet 'Mycorrhizes' du projet Innov'AB, nous avons étudié trois essais systèmes de longue durée, en France, pour répondre à deux objectifs. Le premier était de savoir si des systèmes de grandes cultures biologiques, différenciés par des régimes de fertilisation contrastés, avaient des effets différents sur la capacité des CMA présents dans les sols à mycorhizer les racines d'une plante-piège (pois) cultivée en serre. Nous avons montré qu'il existait une relation négative générale entre le P Olsen et le taux de mycorhization, et entre le P Olsen et le nombre d'arbuscules. Nous n'avons pas réussi à expliquer la teneur en P et la biomasse des pois. Le deuxième objectif était de savoir si le taux de mycorhization pouvait être un indicateur pertinent pour rendre compte de l'effet des différents systèmes de culture sur la fertilité des sols en termes de phosphore. Nous avons constaté que celui-ci est un indicateur d'intérêt limité. En effet, même s'il est capable de 'refléter' le système de culture appliqué, notamment en termes de fertilité phosphatée, son interprétation reste, quant à elle, difficile du fait de nombreux paramètres en interactions.</p>	
<p>Abstract : Most plants, including crops, live with Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF). This symbiosis gives crops a better access to nutrients, especially phosphorus, element whose availability is shrinking the most in organic fields soils. In organic stockless systems, phosphorus fertility management is a great deal due to the prohibition of synthetic inputs and the lack of livestock effluents. Therefore, these systems rely on biological recycling pathways such as AMF symbiosis. In the work package 'Mycorrhizae' of Innov'AB project, we investigated three long term field experiments, in France, in order to answer two questions. The first one was to determine if organic systems, differentiated by varied phosphorus fertilization inputs, have different impacts on the soils AMF capacity to colonize pea roots under controlled conditions (trap-culture). We showed a negative relation between the P Olsen and the mycorrhization rate, and between the P Olsen and the number of arbuscules. We did not succeed at explaining the phosphorus content and the biomass of peas. The second one was to know if mycorrhization rate could be a pertinent indicator of the impact of the farming system on the soils phosphorus fertility. We found that it was able to 'reflect' the farming system, especially in phosphorus fertility terms, but its interpretation was not easy because of the numerous interactions between parameters.</p>	
<p>Mots-clés : Arbuscule, Champignon Mycorhizien Arbusculaire (CMA), Phosphore, <i>Pisum sativum</i>, Rot'AB, Serre, Sol, Taux de mycorhization</p>	
<p>Key Words: Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF), Arbuscule, Greenhouse, Mycorrhization rate, Phosphorus, <i>Pisum sativum</i>, Rot'AB, Soil</p>	