



**HAL**  
open science

# Comprendre les performances et l'adaptation de deux variétés-populations de tomate (*S. lycopersicum*) dans un système agroforestier via l'étude du microbiome racinaire dans le cadre d'une recherche participative

Solène Lemichez

## ► To cite this version:

Solène Lemichez. Comprendre les performances et l'adaptation de deux variétés-populations de tomate (*S. lycopersicum*) dans un système agroforestier via l'étude du microbiome racinaire dans le cadre d'une recherche participative. Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. dumas-02980503

**HAL Id: dumas-02980503**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02980503>**

Submitted on 27 Oct 2020

**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.

**AGROCAMPUS OUEST**

CFR Angers  CFR Rennes

Année universitaire : 2019 - 2020

Spécialité : Horticulture

Spécialisation : Sciences et Ingénierie du  
Végétal, option Génétique et Amélioration  
des Plantes

**Mémoire de fin d'études**

d'ingénieur de l'École nationale supérieure des sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage (AGROCAMPUS OUEST), école interne de l'institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement

de master de l'École nationale supérieure des sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage (AGROCAMPUS OUEST), école interne de l'institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement

d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)

**Comprendre les performances et l'adaptation de deux variétés-  
populations de tomate (*S. lycopersicum*) dans un système  
agroforestier via l'étude du microbiome racinaire dans le cadre  
d'une recherche participative.**

Par : Solène LEMICHEZ



**Soutenu à Rennes le 16/09/2020**

**Devant le jury composé de :**

Président : A. Laperche

Rapporteur : E. Lecadre

Examineur : M. Manzanares-Dauleux

Maître de stage : V. Chable

Enseignant référent : A. Laperche

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

## Remerciements

Ce rapport qui embrasse complètement la notion de recherche participative n'aurait pas vu le jour sans toutes celles et ceux avec qui j'ai évolué et échangé pendant ces quelques mois de stage (et avant également, ça compte aussi !). La liste des personnes à remercier est longue et j'en oublierai sans doute, alors MERCI à tous.

Merci à Véronique Chable de m'avoir fait confiance en me proposant ce sujet, ainsi que dans ce qui s'annonce pour la suite. Merci de partager ton énergie, ton expérience, ta vision du monde et ta manière d'être vivante. Travailler avec toi est une formation quotidienne, qui s'accompagne parfois de tiramisu.

Merci à Cendrine Mony de s'être rendue disponible pour m'aiguiller avec bienveillance sur mes questionnements statistiques. Tes relectures et conseils ont été précieux et m'ont fait gagner un temps inimaginable, toujours dans la bonne humeur.

Merci à Philippe Vandenkoornhuysse de m'avoir ouverte au monde des microorganismes et des holobiontes, avec patience et pédagogie. J'espère sincèrement que l'on aura l'occasion de retravailler ensemble.

Merci à Camille Béral (Agrooof Scop) et Hélène Gautier (INRAE PACA, UR 1115 - PSH) pour le partage des données du projet Arbratatouille et leurs conseils, ainsi qu'à leur stagiaire Clémence Rivoire.

Merci aux équipes des Plateformes d'Ecologie Moléculaire et de Génomique Environnementale et Humaine (UMR CNRS 6553 - ECOBIO) pour l'appui technique et le séquençage des échantillons racinaires. Merci également à Marine Biget pour les premières phases du traitement de ces données (au fait, savais-tu que la tomate est autogame ?)

Merci à Denis et Virginie Flores des Terres de Roumassouze. Ces quelques jours à Vézénobres m'ont permis de mesurer la nécessité et la beauté de l'écosystème dans lequel vous vivez. Il y a une part de vous dans ce mémoire, c'est elle qui lui donne son sens.

Merci Margaux pour ton accompagnement tout au long de ce stage et la joie que tu y as apportée. Promis, il y aura toujours du café bien fort à BCRP après ton départ, et notre expédition en Scenic restera pour moi l'un des meilleurs moments de ce stage, quoi qu'on en dise. Je te souhaite le meilleur dans ta formation d'herboriste, j'espère qu'un jour je pourrai me fournir chez toi en tisane dynamisante !

Un grand merci également à toute l'équipe BCRP : Alexandre, Antoine, Benoît, Charline, Elodie, Emma, Pei, Sylvie et Zoé. J'ai trouvé à la Quarantaine une deuxième maison de famille, où musaraignes, troglodytes et rouges-gorges viennent parfois se perdre. Mention spéciale pour toi Anne-Lise qui a supporté un peu plus que les autres mon humour au millième degré. Avec joie de te retrouver pour de prochaines escapades, à Béhuard ou ailleurs, histoire de rire de nos nombreuses personnalités (portes fermées bien sûr !)

Enfin, merci à mes parents qui n'ont jamais cessé de croire en moi et qui m'ont toujours soutenue, où que j'aille. On en a passé du temps à refaire le monde ensemble ! Ce mémoire sur le vivant, je vous le dédie.



"Centrer l'attention, non sur les êtres, mais sur les relations."  
Baptiste Morizot, *Manières d'être vivant*



## Liste des abréviations

ACP : Analyse en Composantes Principales

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AIA : Acide Indole-3-Acétique

AMF : Arbuscular Mycorrhizal Fungi

ANOVA : ANalysis Of VAriance

ARNr : Acide RiboNucléique ribosomique

CDB : Cœur de Bœuf

CNRS : Centre National de la Recherche Scientifique

FROGS : Find, Rapidly, OTUs with Galaxy Solution

GWAS : Genome-Wide Association Study

GxE : interaction Génotype x Environnement

H2020 : Horizon 2020

IFOAM : Fédération Internationale des Mouvements d'Agriculture Biologique

INRAE : Institut National de Recherche pour l'Agriculture et l'Environnement

L : élagué

M : émondé

OTU : Operational Taxonomic Unit

PCR: Polymerase Chain Reaction

PGPB : Plant Growth Promoting Bacteria

QTL : Quantitative Traits Loci

RDB : Rose de Berne

RSP : Réseau Semences Paysannes

SSR : Simple Sequence Repeat

T : têtard

TS : témoin soleil



## Table des figures

Figure 1 : Arbre phylogénétique basé sur la distance génétique pour 11 accessions de *Triticum tauschii*, 119 landraces de blé tendre et 123 variétés modernes (Reif et al. 2005)

Figure 2 : Décomposition de la variance appliquée à la diversité phénotypique pour une culture en mélange de génotypes ou d'espèces. (Litrico & Violle, 2015)

Figure 3 : Représentation schématique d'une plante et des microorganismes associés (Shelake et al., 2019)

Figure 4 : Réseau de cooccurrence entre taxons microbiens détectés dans des sols en agriculture conventionnelle ou biologique (van der Heijden & Hartmann, 2016)

Figure 5 : Plan de la ferme de Roumassouze, assolement 2019

Figure 6 : Schéma d'une planche de culture

Figure 7: Trajectoire de sélection de la ferme du Roumassouze pour la tomate agroforestière

Figure 8 : résultats des ACP sur la composition biochimique des fruits pour (a) la modalité de taille, (b) la variété et (c) l'interaction modalité\*variété

Figure 9 : Richesse et abondance des clusters de séquences à l'échelle de la communauté et des principaux phyla

Figure 10 : résultats des ACP sur l'assemblage du microbiome fongique pour (a) la variété, (b) la modalité de taille et (c) l'interaction modalité\*variété

Figure 11 : histogrammes représentant l'indice de Shannon pour les Ascomycètes (a) et la richesse spécifique des Gloméromycètes (b) en fonction des modalités de taille L (élagué), M (émondé), T (têtard) et TS (témoin soleil)

Figure 12 : Plan de plaque associé au marquage moléculaire

## Table des tableaux

Tableau 1 : Principales caractéristiques du site expérimental et de l'itinéraire technique de la Ferme du Roumassouze

Tableau 2 : Modèles statistiques utilisés pour l'analyse des données

Tableau 3 : Résultats des ANOVA pour les variables physico-biochimiques selon les effets Variété et Modalité et leur interaction

Tableau 4 : Résultats des ANOVA pour les indices de diversité à l'échelle de la communauté et des phyla selon les effets Variété et Modalité et leur interaction



## Table des matières

<b>Introduction</b> .....	1
La sélection paysanne pour une plus grande diversité des plantes cultivées.....	1
Diversité cultivée et résilience des agroécosystèmes.....	2
Interactions entre microbiote racinaire et plantes cultivées.....	3
<b>Présentation de l'étude</b> .....	6
<b>Matériel et Méthode</b> .....	7
Site expérimental : la ferme du Roumassouze.....	7
Plantes étudiées.....	7
Qualité physico-biochimique des fruits.....	7
Microbiome racinaire fongique.....	8
Analyses statistiques.....	8
<b>Résultats</b> .....	8
Effets de la variété de tomate et de la modalité de taille sur la qualité physico-biochimique des fruits.....	8
Effets de la variété de tomate et de la modalité de taille sur les communautés fongiques.....	9
Corrélations entre qualité physico-biochimique des fruits et microbiome fongique racinaire.....	9
Perspectives immédiates.....	10
<b>Discussion</b> .....	11
L'agroforesterie modifie des critères qualitatifs des tomates en lien avec la sélection paysanne.....	11
La variété de tomate impacte peu le mycobiote racinaire.....	11
L'intensité de taille des noyers influence le mycobiote racinaire de la tomate.....	12
La structuration du mycobiome racinaire semble modifier la composition biochimique des tomates.....	13
Vers une amélioration des plantes hologénomique ?.....	13
<b>Conclusion</b> .....	14
<b>Bibliographie</b> .....	16
<b>Annexes</b> .....	24

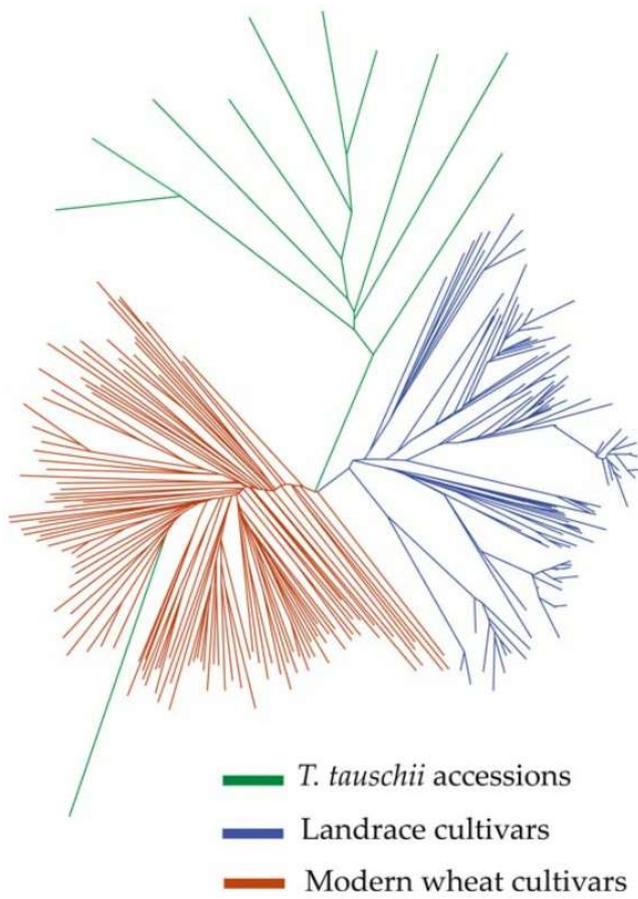


Figure 1 : arbre phylogénétique basé sur la distance génétique pour 11 accessions de *Triticum tauschii*, 119 landraces de blé tendre et 123 variétés modernes (Reif et al. 2005).

## Introduction

### *La sélection paysanne pour une plus grande diversité des plantes cultivées*

Au cours des dernières décennies et particulièrement dans le contexte de l'après-guerre, le système agricole mondial a considérablement évolué : d'une production principalement familiale, vivrière et manuelle, il est devenu mécanisé, motorisé et uniformisé à grande échelle (Bonneuil & Thomas, 2009). Les transformations des itinéraires techniques sont alors soutenues par la création de variétés modernes : la sélection variétale devient une activité à part, désolidarisée de la diversité des sites de production, dont l'objectif est de générer des plantes stables et homogènes en s'appuyant sur des outils génétiques et biologiques (Bonneuil et al., 2006). Ce système aujourd'hui dominant dans les sociétés occidentales conduit à l'érosion de la biodiversité cultivée et spontanée (Louwaars, 2018), la perte de diversité fonctionnelle des agrosystèmes et la diminution de leur résilience (Johnson et al., 2015 ; Döring et al., 2015 ; Stukenbrock & McDonald, 2008). En particulier, la sélection variétale moderne est efficace pour répondre aux besoins des systèmes de production industriels mais a conduit à l'érosion génétique des espèces cultivées : par la recherche d'un progrès génétique croissant, les variétés locales et populations traditionnelles adaptées à leur terroir sont remplacées par des lignées pures, stables et homogènes, au prix de réduire la diversité génétique et de déstabiliser les systèmes alimentaires (Houry et al., 2014). En effet, si la sélection créatrice a développé un nombre considérable de nouvelles variétés, leur diversité intra- et inter-variétale est bien plus étroite que celle des populations traditionnelles et anciennes dont elles proviennent (Reif et al., 2005) (Fig. 1). Cette variabilité génétique est cependant indispensable pour maintenir le potentiel d'adaptation des plantes, notamment face aux bio-agresseurs et aux changements environnementaux (Loreau et al., 2001). En outre, la sélection moderne, en faisant appel à des techniques dépassant les limites biologiques naturelles des espèces pour accélérer le processus de sélection, est incompatible avec les principes de l'agriculture biologique d'un point de vue éthique, mais aussi biologique (Chable & Berthelot, 2006 ; Nuijten et al., 2017).

La sélection paysanne propose une alternative dans la mesure où elle repose sur une co-évolution du peuplement végétal avec son environnement et les pratiques des agriculteurs, pour des objectifs quantitatifs et qualitatifs de production (Chable et al., 2014 ; Chable et al., 2020). Tandis que les méthodes conventionnelles de sélection éliminent chaque plante déviant du type variétal, le travail du paysan s'appuie sur l'existence même de cette variabilité nécessaire à une évolution et une adaptation continue et rapide des populations (van Frank et al., 2020). Les semences paysannes, selon la définition du Réseau Semences Paysannes (RSP), sont un "commun", issu de populations dynamiques reproduites par le cultivateur, au sein d'un collectif ayant un objectif d'autonomie semencière. Elles sont sélectionnées et multipliées avec des méthodes non transgressives des cellules végétales et à la portée du cultivateur final, dans des systèmes en agriculture paysanne, biologique ou biodynamique. Ces semences sont renouvelées par multiplications successives en pollinisation libre et/ou en sélection massale, sans auto-fécondation forcée sur plusieurs générations. Les semences paysannes, avec les savoirs et savoir-faire qui leurs sont associés, sont librement échangeables dans le respect des droits d'usage définis par les collectifs qui les multiplient (RSP, 2019). La sélection paysanne, en France comme dans d'autres régions du monde, prend la forme de réseaux de sélection participative selon la définition de Vernooy (2003) : des approches impliquant une collaboration étroite entre chercheurs, paysans et potentiellement d'autres acteurs, pour favoriser une amélioration des cultures. L'organisation de la sélection participative répond aux quatre principes majeurs de l'agriculture biologique définis par la Fédération Internationale des Mouvements d'Agriculture Biologique - santé, écologie, équité et

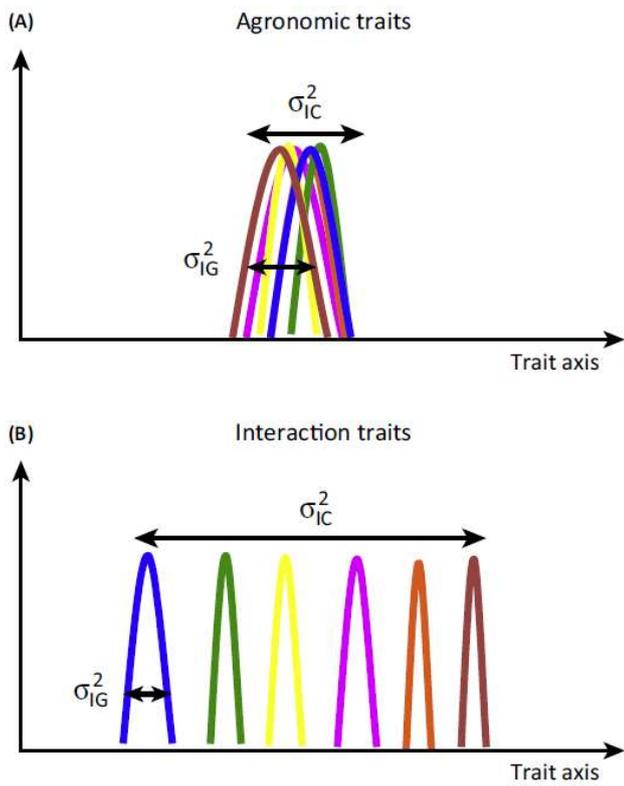


Figure 2 : Décomposition de la variance appliquée à la diversité phénotypique pour une culture en mélange de génotypes ou d'espèces. (Litrico & Violle, 2015)

précaution (IFOAM, 2005) - via : (i) l'utilisation de schémas de sélection qui respectent les caractéristiques biologiques et l'intégrité de l'espèce (Lammerts van Bueren, 2018) ; (ii) le renforcement de l'adaptation locale, qui soutient les systèmes écologiques ; (iii) la promotion d'un marché semencier à petite échelle, où la confiance entre les opérateurs est la première règle ; et (iv) la recherche participative pour la production de semences saines, de cultures adaptées à leur terroir, et le développement d'une diversité cultivée pour les générations futures (Chable et Serpolay, 2016).

### *Diversité cultivée et résilience des agroécosystèmes*

En écologie théorique, l'étude approfondie du fonctionnement des écosystèmes a établi le lien entre la biodiversité et l'adaptabilité des systèmes diversifiés (Pautasso et al., 2005 ; Tilman et al., 1997 ; Loreau et al., 2001). Plus récemment, l'écologie fonctionnelle a permis de tester et quantifier les mécanismes de complémentarité d'utilisation des ressources entre les espèces végétales, et de ce fait, de comprendre les liens entre diversité végétale et production primaire. Cette approche repose sur la notion de traits fonctionnels (définis comme tout caractère morphologique, anatomique, physiologique ou phénotypique mesurable au niveau de l'individu) reliés au mode d'utilisation des ressources de l'espèce (Violle et al., 2007 ; Violle & Jiang, 2009). Au-delà de l'effet significatif du nombre d'espèces (Hooper et al., 2005 ; Hughes et al., 2008) sur la performance d'un écosystème, la maximisation de la diversité des traits fonctionnels entre espèces dans un écosystème favorise la complémentarité de l'utilisation des ressources à l'échelle de cet écosystème (Cadotte et al., 2011). Par exemple, en introduisant des espèces pérennes dans les systèmes cultivés, l'agroforesterie augmente de ce fait la diversité fonctionnelle (Huang et al., 2002), avec de multiples bénéfices enregistrés : effet tampon sur les variations de température et de précipitation, résistance à la sécheresse, réduction de l'érosion des sols, apports en matière organique, mais aussi sécurité financière grâce à la ressource en bois (Quandt et al., 2019). Les systèmes agroforestiers se caractérisent également par une meilleure résilience des microorganismes du sol face au stress hydrique (Rivest et al., 2013), notamment en raison d'une plus grande richesse spécifique au niveau de la litière qui favorise la stabilité des communautés de microorganismes (Keith et al. 2008).

Par ailleurs, un certain nombre d'études décrit les variations intra-spécifiques comme aussi importantes que la diversité inter-spécifique pour expliquer le maintien de la coexistence entre espèces et, de ce fait, le contrôle du fonctionnement des écosystèmes par la biodiversité, comme par exemple en ce qui concerne l'atténuation de l'incidence de pathogènes (Violle et al., 2012 ; Bolnick et al., 2011 ; Jung et al., 2010). Ces conclusions rejoignent celles de différents courants scientifiques - s'intéressant notamment aux bénéfices de la diversité au champ pour augmenter la durabilité des systèmes (Østergård et al., 2009 ; Goldringer et al., 2020), à la sélection participative (Ceccarelli, 2016), à la sélection dynamique (Murphy et al., 2005) et aux dynamiques de gestion des populations cultivées à la ferme (Thomas et al., 2012) - quant à l'intérêt de cultiver et sélectionner des variétés génétiquement hétérogènes, donnant toute son ampleur à la notion d'agro-écosystème (Moonen & Barberi, 2008 ; Cabell & Oelofse, 2012).

L'approche classique de sélection variétale repose quant à elle sur l'amélioration de génotypes en culture mono-spécifique, que ce soit pour des populations mono- ou multi-génotypiques. Ceci reflète la structure la plus courante des variétés actuelles, qui comprennent un seul génotype (lignée pure ou hybride) ou plusieurs génotypes dans le cas des variétés synthétiques. Cependant, même pour les variétés synthétiques, la diversité génétique est faible et l'utilisation de la sélection directionnelle maintient une faible variance phénotypique (Litraco & Violle, 2015) (Fig.2). Pourtant, la conservation de populations hétérogènes, comme c'est le cas dans les milieux naturels, semble clef pour la résilience des

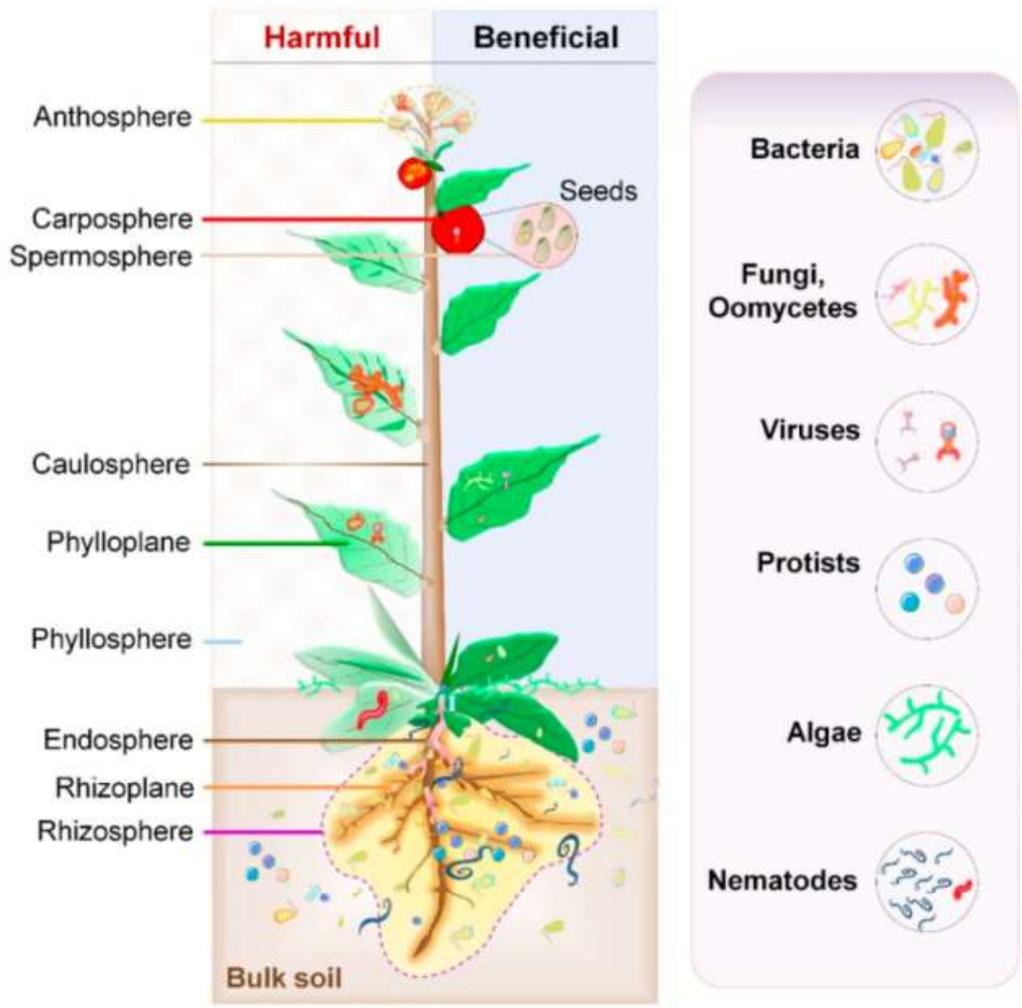


Figure 3 : Représentation schématique d'une plante et des microorganismes associés (Shelake et al., 2019)

agro-écosystèmes dans la mesure où elle favorise leur capacité à s'adapter et à développer des interactions positives au sein de leur environnement (Enjalbert et al., 2011). Au-delà des interactions entre végétaux, de nouvelles réflexions émergent sur des interactions jusqu'alors négligées. Le développement des connaissances éco-évolutives rend aujourd'hui possible l'étude des interactions plantes-microorganismes et suggère de nouvelles conceptions de la sélection (Duhamel & Vandenkoornhuyse, 2013).

C'est dans ce contexte que s'inscrit le projet européen H2020 LIVESEED (2017-2021), qui comprend 49 partenaires dans 18 pays et dans lequel se positionne ce stage. L'objectif est d'améliorer la transparence et la compétitivité du secteur des semences et de la sélection pour l'agriculture biologique ainsi que d'encourager une plus large utilisation des semences biologiques, tout en favorisant une mise en œuvre harmonisée de la réglementation européenne. Des approches de sélection spécifiques sont ainsi développées pour élargir les choix de variétés adaptées à l'agriculture biologique sur les légumineuses, les espèces potagères, les arbres fruitiers, les céréales et les cultures fourragères, dans une dynamique de recherche participative à la ferme.

L'intérêt de ce changement de paradigme s'illustre relativement bien chez *Solanum lycopersicum*, notre modèle d'étude. Les QTL (Quantitative Traits Loci), sur lesquels se basent la sélection moderne et les outils génomiques, ont permis une augmentation drastique de la vitesse des changements phénotypiques des tomates cultivées. Des milliers de marqueurs répartis sur ses 12 chromosomes sont corrélés à des caractères phénotypiques tels qu'un péricarpe épais pour améliorer la résistance au transport, des pédicelles sans entre-nœud pour faciliter la transformation, une insensibilité à l'éthylène pour manipuler les dynamiques de maturation, des traits de résistance aux virus, bactéries et nématodes, entre autres. Bien que de nombreux traits puissent être associées à des régions chromosomiques précises, ceux associés au recrutement des communautés microbiennes restent encore largement inconnus (Ottesen et al., 2013). Ces changements phénotypiques ont aussi influencé les dynamiques d'échanges entre la tomate et son environnement microbiotique en raison d'un manque de trajectoire co-évolutive (Ottesen et al., 2013). La prise en compte de la co-évolution entre le peuplement végétal et son environnement microbiotique peut se réaliser en intégrant la diversité des sites de production et leurs dynamiques environnementales spécifiques aux méthodes de sélection. En ce sens, la sélection paysanne est particulièrement adaptée.

#### *Interactions entre microbiote racinaire et plantes cultivées*

On appelle microbiote les champignons et bactéries formant des communautés symbiotiques à la fois internes (endosymbiose) et externes (ectosymbioses) avec un hôte. Chez les plantes, ces communautés microbiennes sont compartimentées selon les différents organes de l'hôte, qui sont par ailleurs d'importants réservoirs de recrutement de ces organismes (Compant et al., 2019) (Fig. 3). Dans cette partie, on s'intéressera principalement au microbiome racinaire, illustré autant que possible par des exemples sur le modèle de *S. lycopersicum*.

Les interactions entre plantes et microorganismes sont sous l'influence d'une large gamme de facteurs biotiques et abiotiques : structure et type de sol, pH, salinité, hygrométrie, teneur en matière organique, composition des exsudats racinaires, conditions climatiques (Fierer et al., 2017). En plus des variations environnementales, des études portant sur *A. thaliana* (Bulgarelli et al., 2012 ; Lundberg et al., 2012 ; Lebeis et al., 2015), l'orge (Bulgarelli et al., 2015), le maïs (Peiffer et al., 2013), la pomme de terre (Rasche et al., 2006) et la tomate (Bergna et al., 2018 ; Kwak et al., 2018) montrent qu'il existe un



effet du génotype sur la composition du microbiome racinaire, lié notamment à la morphologie racinaire, aux exsudats et au type de rhizodéposition.

Des génotypes différents vivant dans un même sol recrutent ainsi des communautés significativement distinctes, leur conférant des résistances aux stress biotiques et abiotiques ou les aidant dans leur croissance ou leur nutrition (Alekkett et al., 2015 ; Hacquard, 2015). En effet, plusieurs études montrent que la majorité des bactéries colonisant la rhizosphère et l'endosphère racinaire favorise la croissance des plantes. Les PGPB (Plant Growth Promoting Bacteria) agissent selon des mécanismes directs ou indirects, par exemple via la production de phytohormones (auxines, cytokinines, gibbérellines) qui modifient les niveaux d'hormones endogènes de la plante (Sgroy et al., 2009). Chez la tomate, presque tous les groupes bactériens prédominants dans la rhizosphère et l'endosphère racinaire sont capables de produire l'acide indole-3-acétique (AIA), l'une des auxines majeures pour la croissance des plantes, ce qui suggère que les rhizobactéries favorisent considérablement la croissance de cette espèce (Spaepen et al., 2007 ; Tian et al., 2015). Dans l'endosphère racinaire et la rhizosphère, la fixation de l'azote s'opère chez de nombreuses plantes notamment par l'intermédiaire de bactéries telles *Azotobacter*, *Azospirillum* et des *Bacillus* (Vandenkoornhuysse et al., 2015) impactant donc la croissance des plantes, dont celle de la tomate (Tian et al. 2017). En étudiant la transmission des bactéries à l'échelle du plant, Bergna et al. (2018) ont par ailleurs montré pour la tomate que les graines transmettent préférentiellement des endophytes bénéfiques, et qu'elles en sont le principal réservoir. Les PGPB collaborent également avec les mycorhizes arbusculaires (AMF, Arbuscular Mycorrhizal Fungi) pour favoriser la croissance des plantes de façon synergique via différents processus tels que l'acquisition de nutriments ou la régulation des pathogènes (Artursson et al., 2006).

En plus de favoriser la croissance des plantes, certains microorganismes sont en effet impliqués dans le contrôle des ravageurs et pathogènes (Hopkins et al., 2017). Chez la tomate, un certain nombre d'organismes colonisant les racines ont ainsi démontré des effets significatifs sur la résistance à différents pathogènes tels que les *Pythium sp.*, *Sclerotinia sp.*, et *Fusarium oxysporum* (Sneh et al., 1984; Trutmann and Nelson, 1992; Van Peer et al., 1991; Leeman et al., 1995) grâce à plusieurs mécanismes agissant en synergie (stimulation de la résistance induite des plantes, compétition pour les nutriments et l'espace, production d'enzymes de dégradation des parois cellulaires) ou par antagonisme direct avec les pathogènes (Harman et al., 2004).

En raison du rôle important du microbiote dans différentes fonctions écologiques de la plante, les microorganismes jouent ainsi sur la qualité des fruits, aussi bien nutritionnelle que commerciale. En particulier, plusieurs études montrent que l'inoculation de souches d'AMF et de PGPB seules ou en mélange (*Rhizophagus irregularis*, *Funneliformis mosseae* et *Pseudomonas sp.* entre autres) ont des effets significatifs sur la tomate : augmentation du nombre de fleurs, augmentation du nombre et du poids des fruits, amélioration de la qualité commerciale (matière sèche, pH, concentration en nitrates et citrates) et nutritionnelle (sucres, composés phénoliques, lycopène) des fruits (Bona et al., 2017 ; Hart et al., 2015). L'un des paramètres les plus importants pour la qualité commerciale des tomates est leur teneur en matière sèche. La matière sèche des tomates inoculées au champ avec des microorganismes est doublée par rapport à celles non inoculées. De plus, les plantes colonisées par les AMF ont des fruits avec un pH plus faible et une acidité titrable plus élevée. Les acides organiques jouent un rôle critique dans le maintien de la qualité des fruits, ce pourquoi ils sont parmi les paramètres le plus fréquemment mesurés pour déterminer leur qualité. Les acides organiques contribuent également aux propriétés sensorielles des aliments comme la saveur, qui est une caractéristique importante de leur qualité (Marconi et al., 2007). Beaucoup de composés - sucres, acides et plus de 200 composés volatiles (Hart et al. 2015) - déterminent le goût et le parfum des tomates. La douceur est particulièrement recherchée et

organic farming

conventional farming

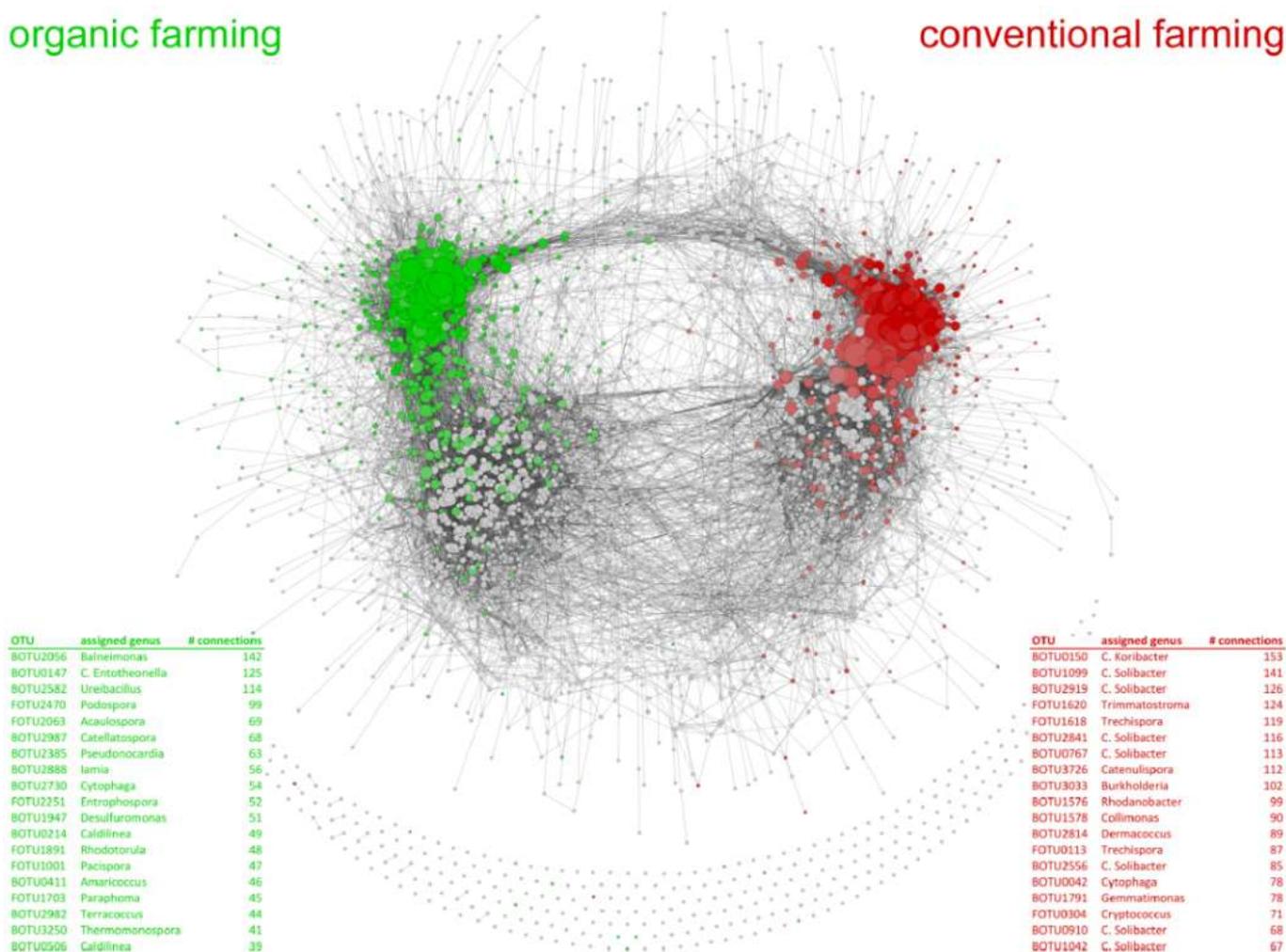


Figure 4 : Réseau de cooccurrence entre taxons microbiens détectés dans des sols en agriculture conventionnelle ou biologique. Les liaisons représentent les interactions positives significatives entre paires de taxons et la taille des nœuds correspond au nombre de connexions. Les nœuds verts sont les taxons microbiens significativement plus abondants dans les parcelles en conduite biologique, tandis que les rouges correspondent aux taxons significativement plus abondants dans les parcelles conventionnelles. Les taxons ayant une forte connectivité et pouvant être identifiés au niveau du genre sont indiqués dans les tableaux (van der Heijden & Hartmann, 2016).

est liée aux concentrations en fructose et glucose, principalement accumulés dans la vacuole des cellules du fruit (Copetta et al. 2011). Les composés bactériens peuvent modifier la photosynthèse et la concentration en sucres, particulièrement en affectant la régulation des acides abscissiques de la plante (Bona et al., 2015). Les voies de signalisation de l'acide abscissique sont liées au "sugar sensing" (Rolland et al. 2006) : les sucres produits pendant la photosynthèse agissent comme des signaux pour la croissance et le développement de la plante, qui sont donc influencés de façon indirecte par les bactéries (Bailly & Weiskopf, 2012). Par ailleurs, les AMF augmentent la qualité nutritionnelle des tomates par un accroissement de la concentration de la plupart des nutriments et minéraux (particulièrement N, P et Cu). De même, les plantes colonisées par des AMF ont des fruits avec une plus grande capacité anti-oxydante et plus de caroténoïdes, et leur concentration en composés volatiles est plus importante (Hart et al., 2015).

Parallèlement, les pratiques agricoles, en modifiant les facteurs environnementaux influant le microbiote racinaire (Hardoim et al., 2015), impactent le réservoir de microorganismes accessibles pour leur recrutement par les plantes agricoles. En effet, Hartmann et al. (2015) ont mis en évidence l'importance des pratiques agricoles dans le recrutement du microbiote en distinguant les communautés microbiennes prélevées dans des sols soumis à une conduite conventionnelles ou biologique, toutes choses étant égales par ailleurs (historique, type de sol, climat). Les réseaux de cooccurrence des deux communautés microbiennes mettent en évidence des schémas de connectivité entre microorganismes très contrastés, suggérant que des réseaux différents sont impliqués dans chaque système agricole, avec des taxons spécifiques. Par ailleurs, beaucoup de ces taxons hautement connectés vivent en étroite association avec les plantes, indiquant leur importance fonctionnelle au sein du microbiome (van der Heijden & Hartmann, 2016) (Fig. 4).

## Présentation de l'étude

Situé à la croisée de l'amélioration des plantes et de la microbiologie, ce rapport aborde dans le contexte d'une sélection paysanne à la ferme en milieu méditerranéen la problématique de **comprendre les performances et l'adaptation de deux variétés-populations de tomates (*Solanum lycopersicum*) dans un système agroforestier via l'étude du microbiome racinaire dans le cadre d'une recherche participative**. En particulier, on cherchera à déterminer la significativité (i) des modalités de taille des arbres et (ii) de la variété de tomate sur la qualité physico-biochimique des fruits (notion de performance) et la structuration des communautés microbiennes ; les corrélations entre la composition du microbiome racinaire et la qualité des fruits. Cette problématique repose sur 3 principes détaillés en introduction (une adaptation spécifique et continue des plantes cultivées dans leur terroir et avec les pratiques des agriculteurs en agriculture biologique est favorisée par la sélection à la ferme ; la conservation et le renouvellement de la diversité cultivée, qu'elle soit inter-spécifique, intra-spécifique mais aussi intra-variétale, est capitale pour la résilience des agroécosystèmes ; le microbiote des plantes cultivées permet de comprendre leurs performances dans un environnement donné) qui conduisent aux hypothèses suivantes :

- I. Le type de taille appliqué aux arbres dans un système agroforestier a une incidence sur la qualité physico-biochimique des fruits de la tomate ;
- II. La variété de tomate et/ou la conduite agroforestière influencent la composition du microbiome racinaire ;
- III. La qualité physico-biochimique de la tomate est liée à la structuration de son microbiote racinaire.

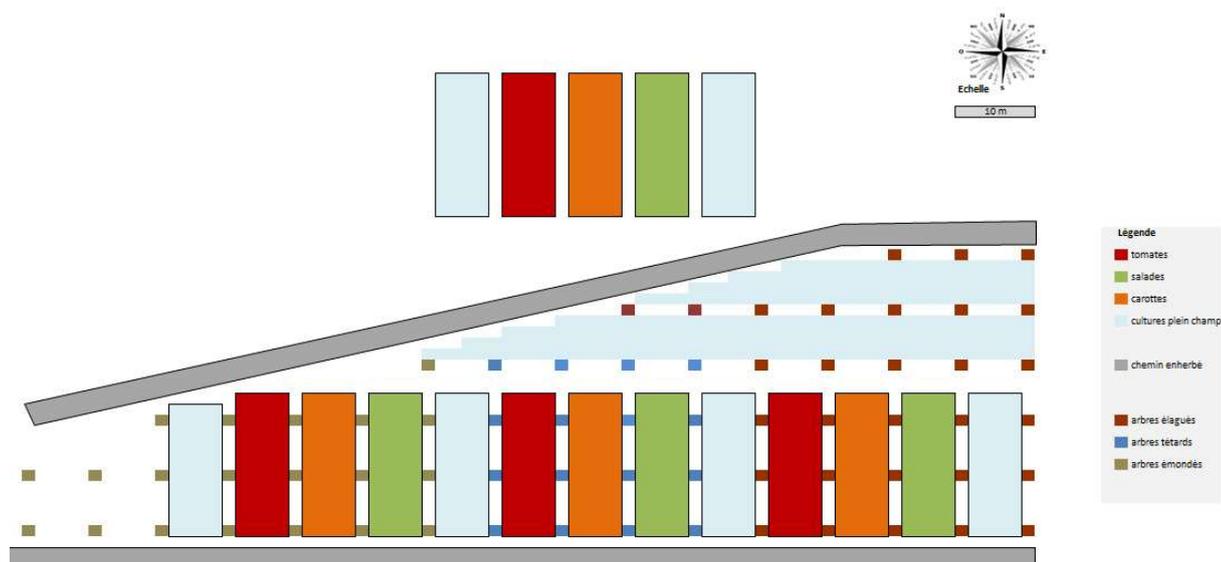


Figure 5 : Plan de la ferme de Roumassouze, assolement 2019. Dispositif en bloc à 2 facteurs : facteur taille à 4 modalités (TS, T, L, M) facteur variété à 2 modalités (CDB, RDB).

Tableau 1 : Principales caractéristiques du site expérimental et de l'itinéraire technique de la Ferme du Roumassouze

Climat (données Meteo France)	
Température moyenne (°C)	15,5
Hauteur de précipitations (mm)	527
Durée d'insolation (h)	2873
Sol (0-20 cm)	
Texture	sableux (56%) limoneux (36%)
pH	8
Matière organique (%)	2,5
Implantation	
Variétés	Rose de Berne + Cœur de Bœuf
Sélection	Paysanne suivant les modalités d'ombrage
Production des semis	Semis autoproduits sur couche chaude
Fertilisation à l'implantation	Fumier de volaille (2 x 56 kg/1000m <sup>2</sup> )
Date plantation	27-28 avril
Espacement des plants	60 cm
Densité de plantation	1,6 plants/m <sup>2</sup> (passe-pieds compris)
Précédent cultural	Légumes feuilles
Conduite	
Irrigation	Goutte à goutte
Paillage	Foin (7 cm)
Désherbage	Manuel
Tuteurage	Conduite en tipi sur structure bambou
Egourmandage / effeuillage	Hebdomadaire à partir de début juin

En outre, cette étude est incluse dans le programme européen H2020 de recherche multi-acteurs LIVESEED (2017-2021), ayant pour objectif de soutenir une sélection végétale spécifique pour l'agriculture biologique. Les données utilisées correspondent au cycle de culture de l'année 2019. Les méthodes ainsi que le dispositif expérimental sont détaillés dans la partie qui suit.

## Matériel et méthode

### *Site expérimental : la ferme de Roumassouze*

La ferme du Roumassouze (44° 30' 11" Nord, 4°08' 10" Est, altitude 151m) est un système agroforestier implanté sur 11ha à Vézénobres (Gard). Le climat méditerranéen, localement influencé par les Cévennes, est sujet à la raréfaction de la ressource en eau. La caractérisation du site est détaillée dans le tableau 1. Sur le site, des noyers hybrides (*Juglans nigra* L. x *Juglans regia* L.) implantés en 1996 sont conduits en association avec des cultures maraîchères, avec un espacement de 10m entre chaque arbre. En 2015, quatre modalités sont définies, correspondant à différentes intensités de taille : élagué (L), émondé (M), têtard (T) et témoin sans arbres (TS). Le volume de branches (m<sup>3</sup>) prélevé sur les arbres dans chaque modalité était de 0,015 (L), 0,084 (M) et 0,3 (T), et les volumes (m<sup>3</sup>) de bois broyés (branches de moins de 7 cm de diamètre) par arbre et par traitement étaient et 0,48, 0,275 et 0,055, pour T, M et L respectivement. L'objectif est de fournir quatre niveaux d'ombrage, créant ainsi quatre environnements microclimatiques. Une deuxième taille en 2018 permet de maintenir les niveaux d'ombrages souhaités. Chaque traitement correspond à une surface de 30\*40 m, soit 1200 m<sup>2</sup>, incluant les planches de cultures et les bandes enherbées entre les rangées d'arbres. Les planches de cultures font 25m de long pour 1m de large et sont séparées par un passe-pied de 0,8m de large. Les différents traitements d'élagage sont délimités par une bande enherbée à la base des rangées d'arbres, mesurant 25 m de long sur 1 m de large (Fig. 10). Les autres pratiques culturales sont identiques entre les modalités et sont détaillées dans le tableau 1. Seuls les plants situés sur la bande centrale (placettes 131, 132, 231 et 232) sont prélevés pour maintenir une distance à l'arbre homogène (Fig. 6).

### *Plantes étudiées*

Dans cette étude, deux variétés anciennes de tomates (*S. lycopersicum*) sont étudiées : Rose de Berne (RDB) et Cœur de Bœuf (CDB). La tomate étant autogame (Chen & Cong, 2007), on considère que chaque variété est une lignée pure ou un mélange de lignées pures proches, sélectionnées par l'agriculteur en accord avec ses pratiques. Pour chaque variété, un même lot de semences est semé en 2018. En fin de cycle, une sélection massale tardive est réalisée afin de sélectionner les plants les plus adaptés (en terme de vigueur et de productivité) à chaque modalité d'ombrage. En 2019, les graines sont semées dans la modalité où elles ont été sélectionnées l'année précédente. Une deuxième génération est sélectionnée selon le même processus et est semée en 2020 (Fig. 7).

### *Qualité physico-biochimique des fruits*

Les récoltes sont étalées sur 3 dates par année de production du fait de l'hétérogénéité de maturation des fruits. Trois fruits sont récoltés par individu. Chaque fruit est pesé et testé au Durofel pour sa fermeté. La coloration externe est mesurée au colorimètre (CR-5, Konica Minolta) dans l'espace colorimétrique CIELAB sur deux faces opposés du fruit. Les 3 paramètres mesurés sont :

- L : clarté qui dérive de la luminance de la surface et prend des valeurs entre 0 (noir) à 100 (blanc de référence)
- a : axe du vert (-60) au rouge (+60)

NORD ←

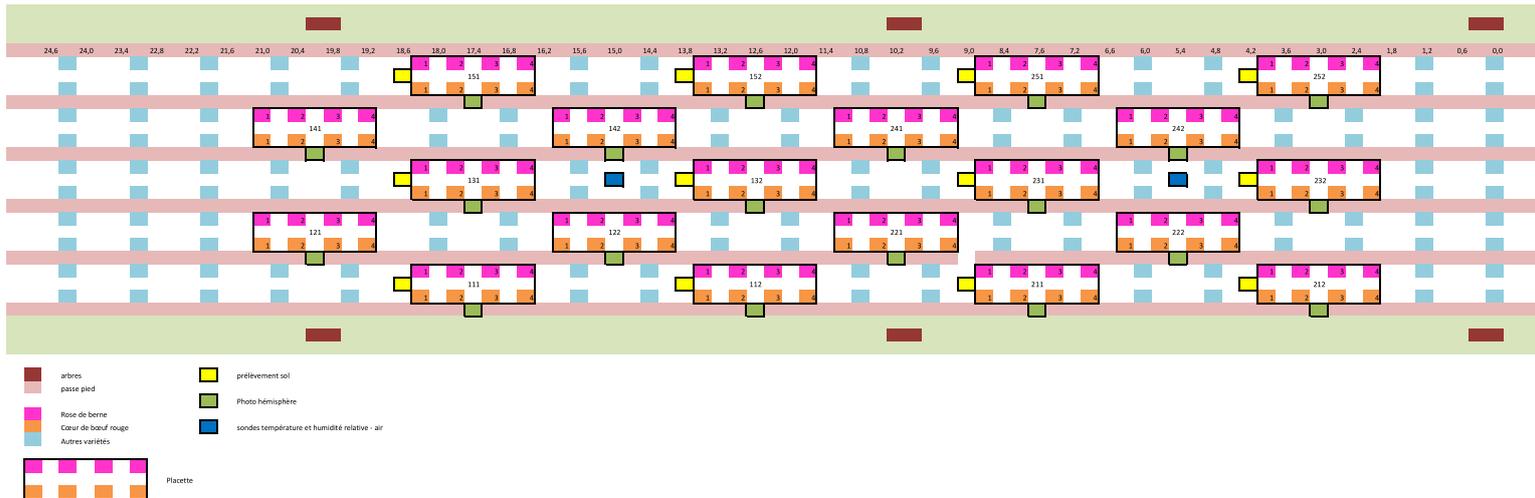


Figure 6 : schéma schéma d'une planche de culture. Pour cette étude, seules celles de la butte centrale sont considérées (131, 132, 231, 232).

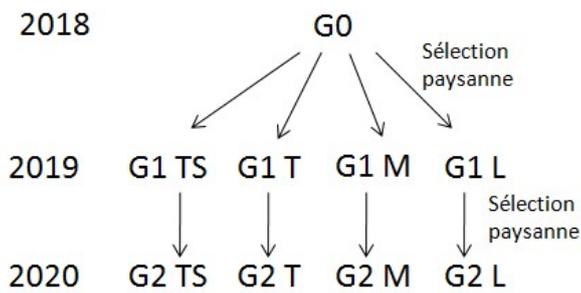


Figure 7 : trajectoire de sélection de la ferme du Roumassouze pour la tomate agroforestière.

- b : axe du bleu (-60) au jaune (+60)

Les fruits sont ensuite coupés sur le plan équatorial. La partie supérieure (zone pédicelle-columelle) est divisée en 4 quartiers égaux, placenta et graines sont retirés pour ne conserver que le péricarpe. Deux quartiers opposés sont utilisés pour les mesures de pourcentage de matière sèche et d'indice réfractométrique (Brix). Le péricarpe de la partie inférieure est stocké à -80°C, broyé dans l'azote liquide puis lyophilisé avant le dosage biochimique des sucres (glucose, fructose, saccharose), acides (citrique et malique), vitamine C et composés phénoliques majoritaires.

### *Microbiome racinaire fongique*

Pour chaque combinaison modalité de taille \* placette, les racines de 3 plantes par variété sont prélevées, soit au total 96 échantillons. Les racines fines du chevelu (<1mm) sont prélevées à une profondeur de 10 à 20cm à proximité immédiate du plant étudié, et le poids d'un échantillon est calibré entre 80 et 100 mg. Les échantillons sont rincés avec une solution de Triton 5/1000 puis à l'eau stérile ultra pure avant d'être séchés et stockés à -80°C avant l'extraction d'ADN. L'extraction est réalisée par la plateforme GENTYANE (UMR GDEC, INRAE) en utilisant un kit Sbeadex™ (LGC) automatisée sur un robot oKtopur™ (LGC). Le dosage de l'ADN est réalisé avec le colorant Hoechst 33258 et un automate Infinite® M1000 (TECAN). Les ADN extraits sont stockés à -20°C avant d'être normalisés à une concentration de 10 ng/μl. Une PCR (illustra™ puReTaq Ready-To-Go™ PCR Beads, GE healthcare®) est effectuée avec le couple d'amorces NS22B (5'-AATTAAGCAGACAAATCACT-3') et SSU0817 (5'-TTAGCATGGAATAATRRRATAGGA-3') ciblant une région d'environ 550 pb de l'ARNr 18S (Borneman & Hartin, 2000; Lê Van et al., 2017). Le protocole d'amplification comprend 35 cycles de dénaturation (95°C pendant 30s), hybridation (54°C pendant 30s) et élongation (72°C pendant 1min), avec une dénaturation initiale (95°C pendant 4min) et une élongation finale (72°C pendant 7min). Les produits de cette première PCR sont ensuite purifiés (Billes magnétiques AMPureXP Agencourt®) avec un robot pipeteur (Bravo-Agilent®), quantifiés par fluorimétrie (Quant-iT PicoGreen™ dsDNA Assay Kit) et normalisés à une même concentration (0,5 ng/μL) pour la préparation de la librairie de séquençage. Une seconde réaction de PCR est réalisée sur un instrument Smartchip (Takara) afin de permettre le marquage individuel des échantillons (multiplexage Illumina) et la production finale de la librairie de séquençage. Cette librairie est ensuite purifiée (Billes magnétiques AMPureXP Agencourt®) et quantifiée (Kapa Library Quantification Kit-Illumina®) avant d'être séquencée avec un instrument MiSeq Illumina® (kit Paired-end 2x300 cycles). La production des librairies ainsi que le séquençage ont été réalisés par la plateforme de Génomique Environnementale et Humaine (GEH, Rennes, France).

Les données de séquençage sont traitées avec le pipeline FROGS (Find, Rapidly, OTU, with Galaxy Solution) (Escudé et al., 2017). La méthode de clustering utilisée est SWARM (Mahé et al., 2014), qui génère des clusters de séquences (~OTUs) mais avec l'avantage de ne pas recourir à un seuil d'identité arbitraire (technique produisant des OTUs). Afin d'éviter la création de clusters de séquences artificiels, seuls ceux contenant des séquences provenant d'au moins 3 échantillons indépendants sont conservés. La base de données de séquences fongiques PHYMYCO-DB (Mahé et al., 2012) est utilisée pour l'affiliation taxonomique par BLAST des clusters de séquences dans FROGS. Ces clusters sont ensuite filtrés suivant la qualité de l'affiliation avec un seuil de 95% en couverture et 95% en identité. Les données sont organisées dans un tableau de contingence et le nombre de séquences par échantillon est normalisé à 7904 en utilisant le package 'vegan' dans R. Ce nombre de séquences permet de décrire avec précision la composition du mycobiote racinaire, vérifié par courbe de raréfaction pour chaque échantillon avec le module 'vegan' dans R. Ces données normalisées sont utilisées pour l'analyse statistique. L'assemblage du mycobiote racinaire est étudié à l'échelle de la communauté et des phyla

Tableau 2 : modèles statistiques utilisés pour l'analyse des données.

Variabes X	Modèle	Distribution	Ecriture du modèle
Qualité des fruits	lme	Gaussienne	lme(X ~ VARIETE*MODALITE, random = ~ 1   INDIVIDU)
Indices de diversité	lme	Gaussienne	lme(X ~ VARIETE*MODALITE, random = ~ 1   PLACETTE/INDIVIDU)
Richesse spécifique	glm	Poisson	glm(X ~ VARIETE*MODALITE, family="poisson")

Tableau 3 : Résultats des ANOVA pour les variables physico-biochimiques selon les effets Variété et Modalité et leur interaction. Les p-valeurs significatives sont notées en gras.

Variables	Variété		Modalité		Variété*Modalité	
	F-value	p-value	F-value	p-value	F-value	p-value
Matière sèche	30,24	<b>3,814E-08</b>	52,22	<b>2,69E-11</b>	3,48	0,32
Poids	168,27	<b>&lt; 2,2E-16</b>	32,89	<b>3,39E-07</b>	13,63	<b>3,45E-03</b>
<b>Sucres</b>	18,22	<b>1,97E-05</b>	118,49	<b>&lt; 2,2E-16</b>	2,50	0,48
Glucose	18,06	<b>2,14E-05</b>	75,16	<b>3,35E-16</b>	3,30	0,35
Fructose	14,69	<b>1,27E-04</b>	154,89	<b>&lt; 2,2E-16</b>	3,49	0,32
Saccharose	9,33	<b>2,25E-03</b>	40,08	<b>1,02E-08</b>	3,70	0,30
<b>Acides</b>	0,06	0,81	186,33	<b>&lt; 2,2E-16</b>	9,18	<b>0,03</b>
Acide citrique	1,07	0,30	159,25	<b>&lt; 2,2E-16</b>	7,55	0,06
Acide malique	14,88	<b>1,14E-04</b>	144,85	<b>&lt; 2,2E-16</b>	28,68	<b>2,62E-06</b>
<b>Vitamine C (totale)</b>	32,53	<b>1,17E-08</b>	335,58	<b>&lt; 2,2E-16</b>	2,10	0,55
Vitamine C (réduite)	31,49	<b>2,01E-08</b>	303,68	<b>&lt; 2,2E-16</b>	3,93	0,27
Vitamine C (oxydée)	1,99	0,16	26,66	<b>6,95E-06</b>	7,84	<b>0,05</b>
<b>Composés phénoliques</b>	139,33	<b>&lt; 2E-16</b>	216,41	<b>&lt; 2,2E-16</b>	14,35	<b>2,47E-03</b>
Acide cafféique glucoside	65,97	<b>4,58E-16</b>	47,22	<b>3,12E-10</b>	3,41	0,33
Acide chlorogénique	28,70	<b>8,45E-08</b>	260,58	<b>&lt; 2,2E-16</b>	2,18	0,54
Dérivés acide cafféique 1	4,61	<b>0,03</b>	95,29	<b>&lt; 2,2E-16</b>	0,35	0,95
Dérivés acide cafféique 2	8,77	<b>3,07E-03</b>	22,05	<b>6,38E-05</b>	1,97	0,58
Rutine	5,13	<b>0,02</b>	125,13	<b>&lt; 2,2E-16</b>	7,77	0,05
Naringenin chalcone	1848,93	<b>&lt; 2,2E-16</b>	39,89	<b>1,12E-08</b>	18,74	<b>3,09E-04</b>
Acide cryptochlorogénique	19,94	<b>7,98E-06</b>	223,69	<b>&lt; 2,2E-16</b>	1,85	0,60
Kaempferol rutinoside	13,05	<b>3,03E-04</b>	17,42	<b>5,79E-04</b>	18,15	<b>4,10E-04</b>
Brix	13,53	<b>2,35E-04</b>	11,08	<b>0,01</b>	1,01	0,80
L	18,23	<b>1,96E-05</b>	12,81	<b>0,01</b>	13,80	<b>3,20E-03</b>
A	5,07	<b>0,02</b>	4,62	0,20	4,84	0,18
B	554,16	<b>&lt; 2,2E-16</b>	31,68	<b>6,11E-07</b>	5,15	0,16
Durofel	1,95	0,16	0,32	0,96	3,82	0,28
<b>Caroténoïdes</b>	8,79	<b>3,02E-03</b>	3,54	0,32	10,09	<b>0,02</b>
Lutéine	31,01	<b>2,57E-08</b>	11,91	<b>7,70E-03</b>	5,28	0,15
Lycopène	3,59	0,06	3,49	0,32	11,80	<b>8,09E-03</b>
Béta-carotène	28,34	<b>1,02E-07</b>	4,42	0,22	7,94	<b>0,05</b>
Phytoène	28,30	<b>1,04E-07</b>	6,38	0,09	5,13	0,16

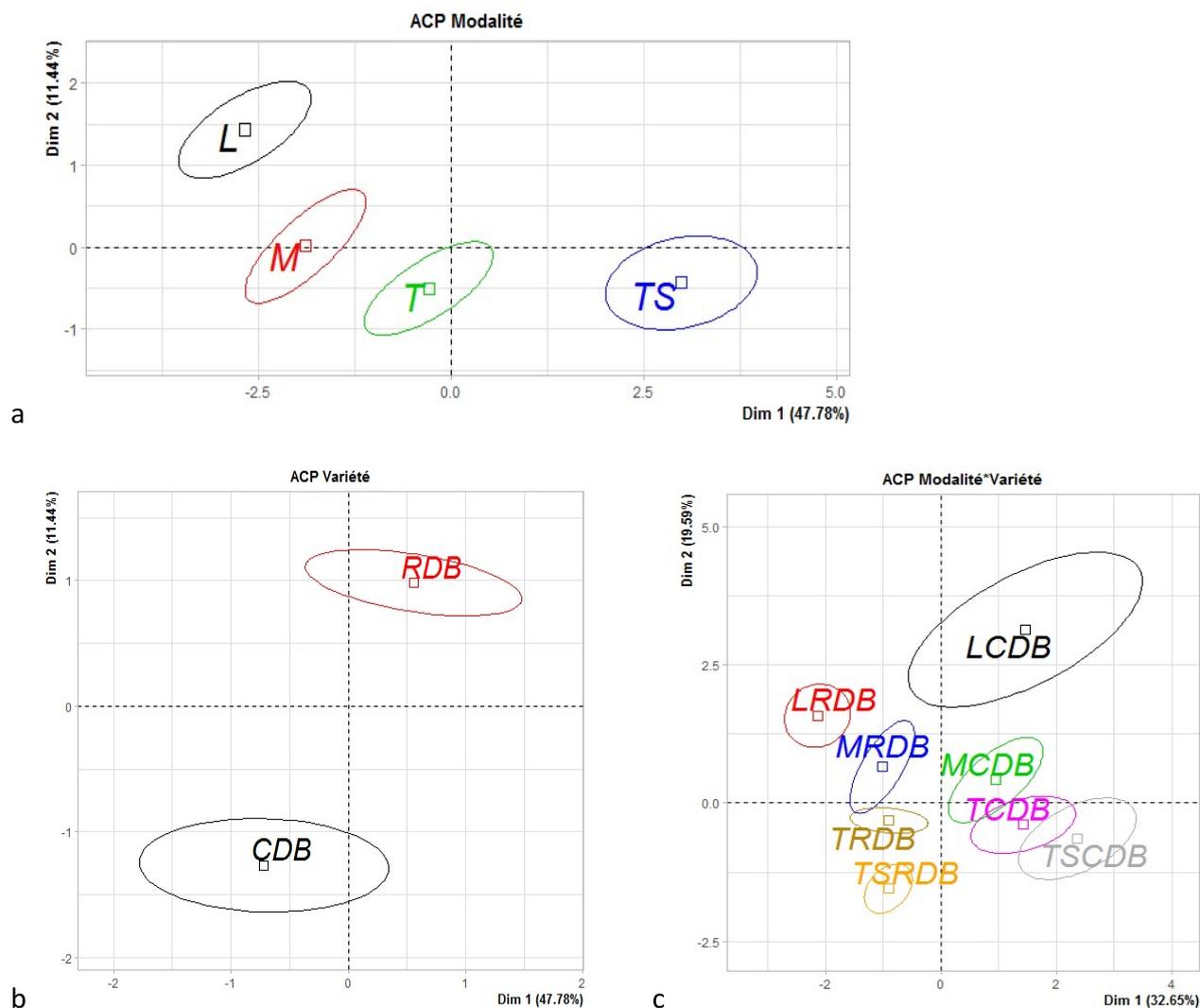


Figure 8 : résultats des ACP sur la composition biochimique des fruits pour (a) la modalité de taille, (b) la variété et (c) l'interaction modalité\*variété. Les ellipses de confiance sont paramétrées pour une probabilité  $p=0,95$ . Les modalités de taille sont codées comme suit : L (élagué ; 20 points), M (émondé ; 21 points), T (têtard ; 28 points), TS (témoin soleil ; 34 points). Les variétés sont codées comme suit : RDB (Rose de Berne ; 58 points) CDB (Coeur de Boeuf ; 45 points). Les interactions sont codées comme suit : LRDB (élagué\*Rose de Berne ; 16 points), LCDB (élagué\*Coeur de Boeuf ; 4 points), MRDB (émondé\*Rose de Berne ; 11 points), MCDB (émondé\*Coeur de Boeuf ; 10 points), TRDB (têtard\*Rose de Berne ; 12 points), TCDB (têtard\*Coeur de Boeuf ; 16 points), TSRDB (témoin soleil\*Rose de Berne ; 19 points), TSCDB (témoin soleil\*Coeur de Boeuf ; 15 points). Les points correspondant aux individus ne sont pas représentés afin de faciliter la lecture.



Ascomycota, Basidiomycota et Glomeromycota en utilisant différents indices de diversité : richesse spécifique, indice de Shannon, équitabilité et indice de Simpson.

### *Analyses statistiques*

Afin de tester l'effet de la variété de tomate et de l'intensité de taille des noyers sur la qualité physico-biochimique des fruits, un premier modèle linéaire est construit avec pour facteur fixe la variété et la modalité de taille, et les individus sont intégrés en tant qu'effet aléatoire. Pour chaque facteur, une ACP permet de visualiser la répartition des individus selon leur modalité. Les variables pour lesquelles l'interaction des facteurs est significative ne sont pas pris en compte afin de ne pas biaiser l'analyse, de même que celles pour lequel le facteur testé n'a pas d'effet. Un deuxième modèle linéaire permettant de tester l'effet de la variété et de l'intensité de taille sur la structuration du microbiote (indice de Shannon, indice de Simpson et équitabilité) est construit de façon similaire. Pour ce modèle, le plan d'échantillonnage permet d'intégrer la placette en effet aléatoire apparié aux individus. Un modèle Poisson permet enfin de tester l'effet de la variété et de la modalité de taille sur le nombre d'espèces de microorganismes (richesse spécifique) (Tab. 2). Pour chaque modèle, les valeurs aberrantes sont supprimées et lorsque cela est nécessaire, les variables à expliquer sont log-transformées pour assurer la normalité des résidus. La significativité de chaque facteur dans le modèle est déterminée par une ANOVA. Pour distinguer la composition du microbiote suivant l'effet variété ou modalité de taille, une ACP sur l'abondance (nombre de séquences) de chaque cluster par individu est réalisée.

Une matrice des corrélations de Pearson entre les données microbiologiques et de qualité des fruits est également établie. En raison de l'hétérogénéité de notation des individus entre les différentes équipes, ces corrélations sont établies sur les moyennes à l'échelle modalité\*variété, et non sur les valeurs individuelles.

L'ensemble des analyses est réalisé avec R studio (R Core team, 2016)

## **Résultats**

### *Effets de la variété de tomate et de la modalité de taille sur la qualité physico-biochimique des fruits*

Les résultats des ANOVA (Tab. 3) montrent un effet significatif de la variété et de la modalité de taille des arbres pour la majorité des variables testées. L'interaction de ces facteurs est elle aussi significative pour un nombre limité de variables. Pour chaque facteur, une ACP permet de visualiser la répartition des individus selon leur modalité. L'ACP sur le facteur taille (Fig. 8a) met en évidence une différenciation de profil biochimique avec un gradient suivant l'ouverture du milieu (Annexe 2). Celle sur le facteur variété illustre la divergence de profils biochimiques entre les deux populations (Fig. 8b) (Annexe 3). En ne considérant que les variables pour lesquelles l'interaction des facteurs est significative, on observe que les variétés se répartissent de part et d'autre de l'axe 1 tandis que les modalités de tailles suivent un gradient d'ouverture sur l'axe 2 (Fig. 8c) (Annexe 4).

Pour les variables où un effet variétal sans effet d'interaction des facteurs est présent, on observe que la variance intra population est supérieure pour 4 descripteurs chez la Cœur de Bœuf (teneur en glucose, dérivés primaires et secondaires de l'acide caféique et rutine) et 5 pour la Rose de Berne (teneur en sucres, fructose, vitamine C totale et réduite, acides citrique et chlorogénique). La

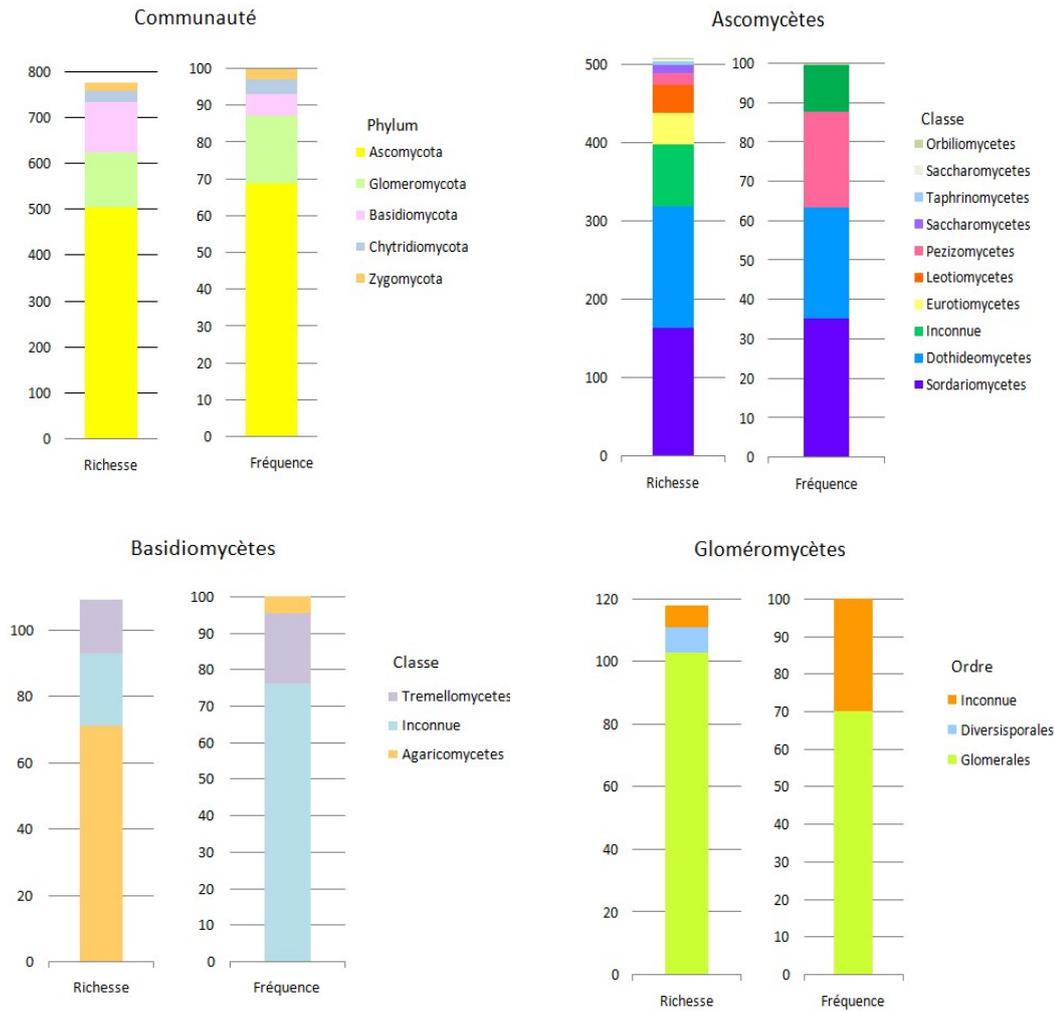


Figure 9 : Richesse et abondance des clusters de séquences à l'échelle de la communauté et des principaux phyla.

Tableau 4 : Résultats des ANOVA pour les indices de diversité à l'échelle de la communauté et des phyla selon les effets Variété et Modalité et leur interaction. Les p-valeurs significatives sont notées en gras.

Variable		Variété		Modalité		Variété*Modalité	
		LR Chisq	p-value	LR Chisq	p-value	LR Chisq	p-value
Communauté	Richesse spécifique	9,43	<b>2,87E-03</b>	5,60	<b>1,50E-03</b>	0,70	0,55
	Indice Shannon	0,40	0,53	2,95	0,40	1,20	0,75
	Equitabilité	0,01	0,90	2,00	0,57	1,00	0,80
	Indice Simpson	0,22	0,64	1,28	0,73	0,58	0,90
Ascomycètes	Richesse spécifique	16,80	<b>9,92E-05</b>	3,49	<b>0,02</b>	0,69	0,56
	Indice Shannon	0,43	0,51	2,14	0,54	1,87	0,60
	Equitabilité	0,00	0,97	2,92	0,40	1,41	0,70
	Indice Simpson	0,04	0,85	8,97	<b>0,03</b>	1,60	0,66
Basidiomycètes	Richesse spécifique	1,58	0,21	1,21	0,32	0,94	0,43
	Indice Shannon	0,01	0,94	12,10	<b>7,05E-03</b>	10,33	0,02
	Equitabilité	0,04	0,85	18,83	<b>2,96E-04</b>	7,83	0,05
	Indice Simpson	0,00	0,95	10,83	<b>1,27E-02</b>	11,42	<b>9,67E-03</b>
Glomeromycètes	Richesse spécifique	0,09	0,77	9,51	<b>2,39E-05</b>	0,63	0,60
	Indice Shannon	1,04	0,31	12,49	<b>5,89E-03</b>	16,01	<b>1,13E-03</b>
	Equitabilité	1,63	0,20	4,68	0,20	5,38	0,15
	Indice Simpson	0,00	0,98	12,51	<b>5,83E-03</b>	7,21	0,07

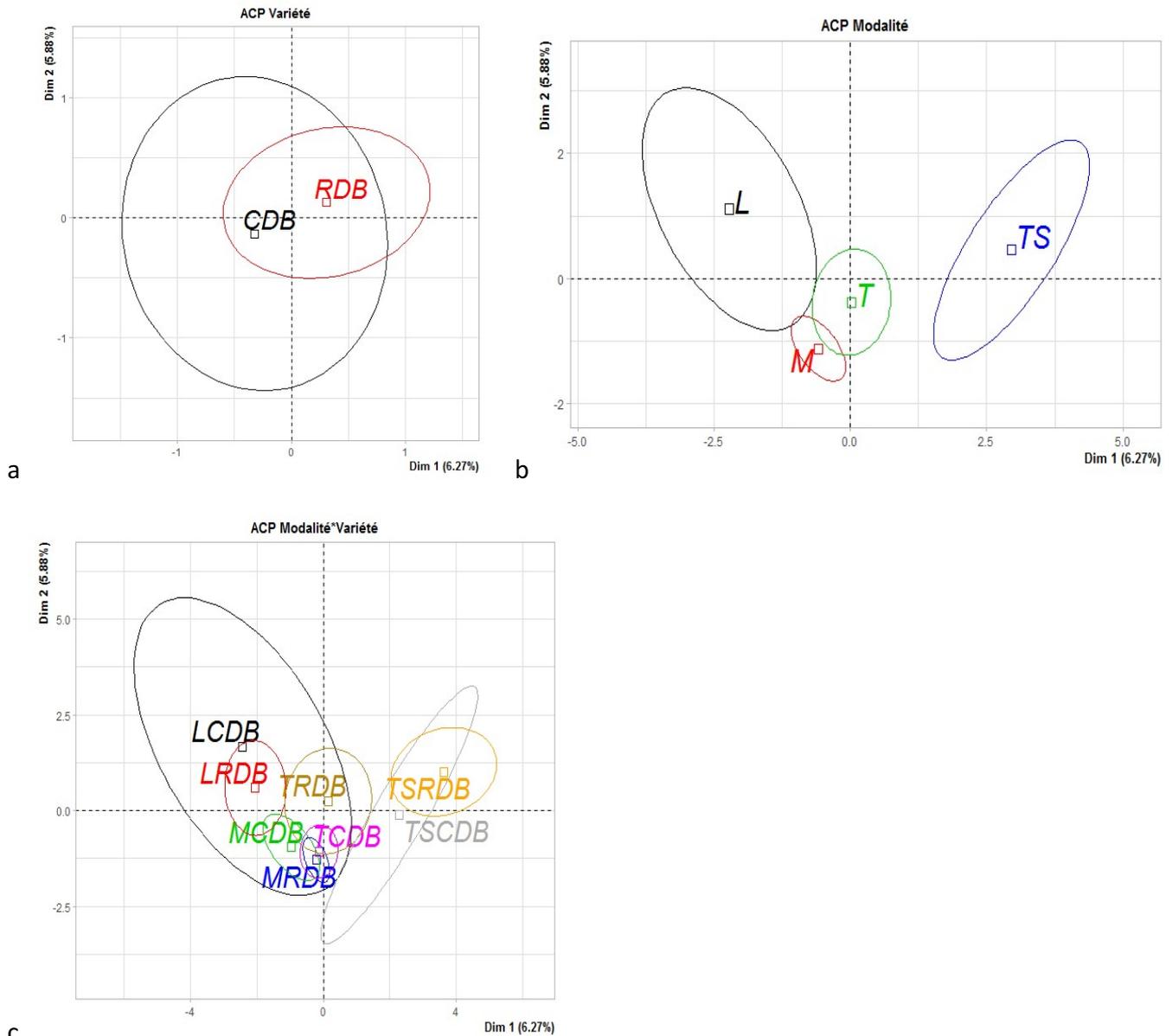


Figure 10 : résultats des ACP sur l'assemblage du microbiome fongique pour (a) la variété, (b) la modalité de taille et (c) l'interaction modalité\*variété. Les ellipses de confiance sont paramétrées pour une probabilité  $p=0,95$ . Les modalités de taille sont codées comme suit : L (élagué ; 23 point), M (émondé ; 24 points), T (têtard ; 23 points), TS (témoin soleil ; 22 points). Les variétés sont codées comme suit : RDB (Rose de Berne ; 47 points) CDB (Coeur de Boeuf ; 45 points). Les interactions sont codées comme suit : LRDB (élagué\*Rose de Berne ; 12 points), LCDB (élagué\*Coeur de Boeuf ; 11 points), MRDB (émondé\*Rose de Berne ; 11 points), MCDB (émondé\*Coeur de Boeuf ; 12 points), TRDB (têtard\*Rose de Berne ; 12 points), TCDB (têtard\*Coeur de Boeuf ; 11 points), TSRDB (témoin soleil\*Rose de Berne ; 11 points), TSCDB (témoin soleil\*Coeur de Boeuf ; 11 points). Les points correspondant aux individus ne sont pas représentés afin de faciliter la lecture.



variance inter population est la plus élevée pour 5 descripteurs : teneur en saccharose, acide caféique glucoside, acide cryptochlorogénique, lutéine et bêta-carotène (Annexe 1).

### *Effets de la variété de tomate et de la modalité de taille sur les communautés fongiques*

Au total, 6432125 séquences sont générées représentant 776 clusters de séquences différents. Le microbiote est dominé par les Ascomycètes et Basidiomycètes, qui représentent respectivement 68,99% et 18,08% des séquences. Les Chytridiomycètes (2,95%), Gloméromycètes (4,02%) et Zygomycètes (5,96%) sont mineurs dans cet assemblage. Les Ascomycètes sont le groupe le plus diversifié, avec 505 clusters de séquences. Les classes majeures en terme de richesse de clusters de séquences sont les Sordariomycetes (164 clusters de séquences), Dothideomycetes (155 clusters de séquences), Eurotiomycetes (40 clusters de séquences) et Leotiomycetes (35 clusters de séquences). Les Basidiomycètes comprennent 109 clusters de séquences, parmi lesquelles 71 appartiennent à la classe des Agaricomycetes et 16 aux Tremellomycetes. Au sein des Gloméromycètes, 118 clusters de séquences sont identifiés, parmi lesquels 105 appartiennent à l'ordre des Glomerales et 8 aux Diversisporales (Fig. 9).

L'analyse de variance montre que la modalité de taille des noyers a un effet significatif particulièrement sur la structuration des communautés de Basidiomycètes et de Gloméromycètes (Tab. 4). Les Basidiomycètes sont plus diversifiés dans les milieux agroforestiers les plus fermés (L et M), tandis que les Gloméromycètes sont plus abondants dans la modalité TS (Annexe 5). La richesse spécifique des Ascomycètes est également impactée par la modalité de taille, mais aussi par la variété de tomate, tout comme la richesse spécifique pour l'ensemble des communautés fongiques, qui est plus élevée lorsque les arbres sont élagués. La variété Rose de Berne possède en moyenne 1,09 fois plus d'espèces fongiques que la variété Cœur de Bœuf, et 1,11 fois plus d'Ascomycètes (Annexe 5). Le nombre d'espèces d'Ascomycètes est plus important pour la modalité L, mais leur indice de Simpson est plus faible dans le milieu TS, où ils sont donc plus diversifiés. L'interaction modalité\*variété n'est significative que pour deux indices dans deux phyla distincts : indice de Simpson pour les Basidiomycètes et Indice de Shannon chez les Gloméromycètes.

Les ACPs sur l'abondance relative (nombre de séquences dans les clusters d'une catégorie taxonomique par échantillon) de chaque cluster à l'échelle de la communauté suivant la variété (Fig. 10a) et la modalité de taille (Fig. 10b) montrent les mêmes tendances que celles réalisées sur les profils biochimiques, avec cependant des divergences moins marquées entre les variétés de tomate et au sein des modalités agroforestières. Concernant l'interaction des deux facteurs (Fig. 10c), l'assemblage des communautés semble moins contrasté mais il est tout de même possible d'observer une répartition des variétés sur l'axe 2 et des modalités de taille sur l'axe 1. Les interactions élagué\*Cœur de Bœuf et émondé\*Rose de Berne ne suivent pas ce schéma général.

### *Corrélation qualité physico-biochimique et microbiome racinaire*

La matrice des corrélations entre les données physico-biochimiques et les indices de diversité met en évidence des corrélations pour l'indice de Simpson des Ascomycètes et la richesse spécifique des Gloméromycètes avec respectivement 10 et 13 variables physico-biochimiques. Les autres indices sont également corrélés à ces variables mais de façon plus anecdotique, nous ne nous intéresserons donc qu'aux deux premiers évoqués précédemment (Annexe 7). Pour les Ascomycètes, l'indice de Simpson est corrélé négativement avec la teneur en fructose, saccharose, vitamine C totale et réduite, en acide chlorogénique, dérivés primaires et secondaires de l'acide caféique, rutine, acide cryptochlorogénique et kaempferol rutinoside. La richesse spécifique des Gloméromycètes est corrélée négativement avec la

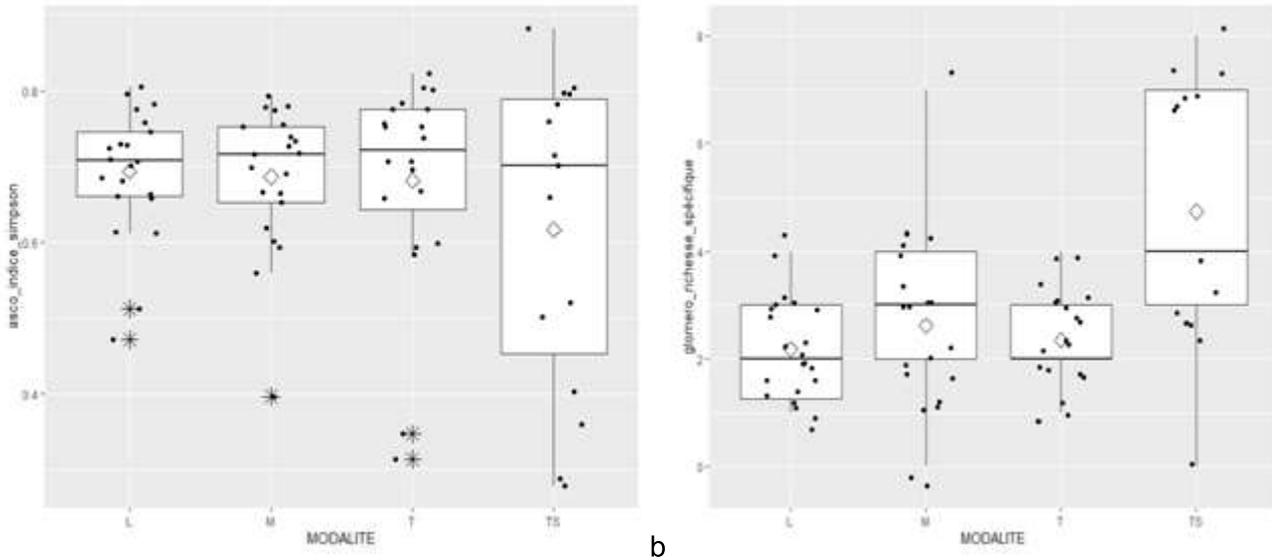


Fig. 11 : histogrammes représentant l'indice de Shannon pour les Ascomycètes (a) et la richesse spécifique des Glomérormycètes (b) en fonction des modalités de taille L (élagué), M (émondé), T (têtard) et TS (témoin soleil)

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	M131CDB	T131CDB	TS131CDB	M131CDB1	M131RDB2	M232RDB1	T232CDB2	T231RDB1	TS132CDB2	TS231RDB1	MCDB	x
B	M132CDB	T231CDB	TS132CDB	M131CDB2	M131RDB3	M232RDB2	T232CDB3	T231RDB2	TS132CDB3	TS231RDB2	TCDB	x
C	M231CDB	T232CDB	TS131RDB	M131CDB3	M132RDB1	M232RDB3	T131RDB1	T231RDB3	TS131RDB1	TS232RDB1	TSCDB	x
D	M131RDB	T131RDB	TS132RDB	M132CDB1	M132RDB2	T131CDB1	T131RDB2	T232RDB1	TS131RDB2	TS232RDB2	MRDB	x
E	M132RDB	T132RDB	TS231RDB	M132CDB2	M132RDB3	T231CDB1	T131RDB3	T232RDB2	TS131RDB3	TS232RDB3	TRDB	x
F	M231RDB	T231RDB	TS232RDB	M132CDB3	M231RDB1	T231CDB2	T132RDB1	T232RDB3	TS132RDB1	x	TSRDB	x
G	M232RDB	T232RDB	x	M231CDB1	M231RDB2	T231CDB3	T132RDB2	TS131CDB1	TS132RDB2	x	x	x
H	x	x	x	M131RDB1	M231RDB3	T232CDB1	T132RDB3	TS132CDB1	TS132RDB3	x	x	TEMOIN
	Bulk 3			Individu				Bulk 12				

Fig. 12 : Plan de plaque associé au marquage moléculaire

teneur en acides totaux et acide citrique, et positivement avec la teneur en sucres (fructose et saccharose), en vitamine C (oxydée et réduite), en acide chlorogénique, dérivés de l'acide caféique, rutine et acide cryptochlorogénique. Comme vu précédemment, la modalité de taille des arbres a un effet significatif sur ces deux indices : l'indice de Simpson chez les Ascomycètes diminue avec l'ouverture du milieu, c'est à dire que la diversité augmente. De même, le nombre d'espèce de Gloméromycètes augmente significativement avec l'ouverture du milieu (Fig. 11)

### *Perspectives immédiates*

En raison du confinement sanitaire imposé, certains résultats attendus dans cette étude n'ont pas été obtenus durant la période de stage. Des analyses sont actuellement en cours et seront exploitées dans le cadre du projet européen LIVESEED. Ainsi, le séquençage du microbiote racinaire bactérien devrait apporter plus de précisions sur les interactions entre variété, agroforesterie et qualité des fruits. De même, l'analyse du microbiote fongique et bactérien des graines de 2019 devrait apporter une vision plus fine de la tomate en tant qu'holobionte (voir discussion). Ces analyses pourront être répliquées en 2020 pour étudier la dynamique temporelle des communautés de la rhizosphère et de la spermosphère, sous réserve de budget suffisant. Les analyses de composition biochimique des fruits pour le cycle 2020 viendront étayer les corrélations avec le microbiome observées en 2019.

Le marquage moléculaire des tomates a lui aussi été retardé. Les résultats sont prévus pour fin septembre 2020. Le but est d'étudier l'impact d'une sélection paysanne différenciée selon l'ombrage grâce à une analyse de diversité génétique réalisée sur échantillons foliaires issus de semences récoltées en août 2020. Pour chaque combinaison modalité de taille\*variété\*placette, un fruit par plant sur 3 plants est récolté. Ce marquage ciblera les huit marqueurs SSR les plus significatifs définis par notre prestataire (VEGENOV). Le plan de plaque correspondant a été élaboré suivant des contraintes budgétaires fortes, car cet axe n'était initialement pas envisagé dans le cadre du projet LIVESEED. Aussi, en raison de la précocité de l'échantillonnage et des besoins des autres équipes, certains pieds ne possédaient aucun fruit pouvant être prélevé. Les échantillons foliaires des graines récoltées sont donc répartis sur une plaque 96 puits comprenant 3 sections (Fig. 12) :

- bulks de 3 plantes par modalité\*variété\*placette
- bulks de 12 plantes par modalité\*variété
- un plant par individu

Le but est d'estimer les fréquences d'allèles mineurs (analyse en bulks) sans surestimer la diversité génétique par rapport à la diversité microbienne. Ainsi, le nombre d'individus par bulks est limité au nombre de prélèvements microbiens suivant l'échelle correspondant (bulks de 3 à l'échelle de la placette et bulks de 12 à l'échelle de la modalité de taille).



## Discussion

### *L'agroforesterie modifie des critères qualitatifs des tomates en lien avec la sélection paysanne*

Conformément aux résultats obtenus, des travaux sur les effets de l'irradiance sur des critères de qualité des fruits menés par Gautier et al. (2008), Jarquín-Enríquez et al. (2013) et par Hernández et al. (2019), montrent chez la tomate une augmentation des teneurs en composés phénoliques et vitamine C lorsque les fruits reçoivent plus de lumière au cours de leur maturation, et des teneurs en acides, lycopène et  $\beta$ -carotène augmentées avec l'ombrage (Annexe 8). Les mécanismes physiologiques sous-jacents sont détaillés par Gautier et al. (2008), qui proposent l'hypothèse que la lumière influence la transcription des gènes de maturation de la tomate ou les activités enzymatiques des métabolismes primaires et secondaires. Ces résultats confirment notre hypothèse d'une influence de l'agroforesterie sur la composition biochimique des tomates.

La récurrence de l'effet de la variété de tomate sur le profil biochimique (Tab. 3) rejoint les conclusions de Martí et al. (2018), qui montrent que le génotype est déterminant dans l'accumulation des composés organiques chez la tomate. Cet effet variétal montre également que la sélection paysanne maintient des profils biochimiques différents pour les deux variétés-populations étudiées. Le fait que la variance intra variétale soit supérieure à la variance inter variétale pour la majorité des descripteurs biochimiques reflète la trajectoire de la sélection paysanne, qui pour la tomate trouve sa source dans des typologies variétales anciennes composées de plusieurs populations, caractérisées essentiellement par le port de la plante, sa morphologie foliaire ainsi que la couleur et la morphologie des fruits. Les typologies variétales possèdent une hétérogénéité intrinsèque favorisant leur adaptation à différents terroirs via une sélection paysanne (Khan et al., 2020). L'utilisation de descripteurs exclusivement biochimiques permet effectivement de distinguer des profils différents selon les variétés sélectionnées par le paysan, mais n'est pas suffisante à décrire la variabilité intra et inter population. Cela est confirmé par le fait que la variabilité inter variétale est plus élevée que l'intra variétale pour les deux caroténoïdes testés (lutéine et phytoène) qui ont une influence sur la coloration du fruit.

### *La variété de tomate impacte peu le mycobiote racinaire*

Le peu d'effet de la variété sur les communautés fongiques (Tab. 4) est en désaccord avec les études menées sur la tomate (Bergna et al., 2018 ; Kwak et al., 2018) ou d'autres espèces cultivées (Rasche et al., 2006 ; Peiffer et al., 2013 ; Bulgarelli et al., 2015) qui montrent une influence du génotype de l'hôte sur le recrutement des micro-organismes. En outre, les variations du mycobiote sont largement influencées par l'environnement biotique et abiotique (Andreo-Jimenez et al., 2019), qui en raison du dispositif expérimental, masque possiblement l'effet de la variété dans cette étude. De plus, ces observations sont établies sur la base d'un seul prélèvement en fin de saison végétative de la tomate, pouvant amener à une sous-estimation de son effet génétique. On peut également émettre l'hypothèse que la sélection paysanne, en prenant en compte la coévolution entre le peuplement végétal et son environnement microbiotique, influence sur les mécanismes de recrutement des microorganismes par les plantes et conduise de ce fait à des communautés fongiques peu différenciées entre des variétés évoluant dans un même environnement. La variété Rose de Berne semble cependant moins sélective puisqu'elle possède significativement plus d'espèce fongiques associées à son microbiome racinaire (Annexe 6), mais l'hypothèse d'un effet de la variété de tomate sur le recrutement des micro-organismes n'est pas vérifiée. L'étude de la transmission du microbiote à la descendance via les graines (Bergna et al., 2018) dans des agrosystèmes soumis à différentes conduites est une piste



d'investigation qui permettrait de quantifier la contribution de l'effet variétal au regard de l'environnement.

### *L'intensité de taille des noyers influence le mycobiote racinaire de la tomate*

Les résultats obtenus dans cette étude permettent de valider l'hypothèse d'une influence de l'intensité de taille des arbres sur le recrutement des phyla fongiques. Les Basidiomycètes sont ainsi plus riches et diversifiés dans les milieux les plus fermés (élagué et émondé). Ce phylum est connu pour son mode de vie majoritairement saprophytique, agissant sur la décomposition de la matière organique et des litières forestières (Kellner & Vandenbol, 2010). La fermeture du milieu par les noyers conduit probablement à une augmentation des apports en matière organique lors de la sénescence des feuilles, ce qui est cohérent avec l'abondance des basidiomycètes dans les modalités L et M. Certaines espèces de Basidiomycètes sont aussi des pathogènes biotrophes. C'est le cas de *Puccinia sp.* et *Rhizoctonia sp.*, détectés plus abondamment dans les modalités agroforestières. Au-delà des interactions plantes-pathogènes, l'influence des Basidiomycètes sur les espèces végétales cultivées (et notamment leur qualité biochimique) est peu étudiée dans la littérature.

A l'inverse des Basidiomycètes, les Ascomycètes ont des modes de vie plus généralistes expliquant leur dominance dans le microbiote racinaire (Egidi et al., 2019). De nombreux taxons possèdent des capacités de colonisation accrues par une dispersion anémophile, tels que les genres *Acremonium*, *Cladophialophora* et *Cladosporium* (Egidi et al., 2019) présents majoritairement dans la modalité non agroforestière, qui par l'absence d'arbres est un milieu plus favorable aux modes de dispersion aériens. Le mode de dispersion n'est cependant pas suffisant pour comprendre la composition des communautés d'Ascomycètes. Mony et al. (2020) mettent ainsi en évidence une préférence des Ascomycètes pour les communautés végétales peu diversifiées, suggérant ainsi le rôle prépondérant de l'espèce hôte sur la coexistence et la compétition entre les taxons fongiques. A l'échelle du globe, les Ascomycètes sont dominants en raison d'un fort potentiel génomique pour l'utilisation des ressources, la compétition et la résistance aux stress environnementaux grâce notamment à la synthèse de mélanine et la résistance aux composés antibiotiques (Treseder et al., 2015 ; Egidi et al., 2019). C'est le cas des 6 clusters de séquences qui dominent les communautés que nous étudions, indépendamment de la modalité de taille. Parmi elles, on retrouve les taxons *Plectospharella sp.*, *Fusarium sp.*, *Pyrenochaeta lycopersici*, *Gibberella sp.*, *Parascutellinia carneosanguinea* et *Selenaspora guernisacii*. *P. carneosanguinea* et *S. guernisacii* sont deux espèces appartenant à l'ordre de Pezizales dont l'écologie est encore mal connue. Concernant les autres taxons dominants, ce sont des pathogènes opportunistes de nombreuses espèces cultivées et en particulier de la tomate. Tout comme pour les Basidiomycètes, ces résultats invitent à considérer la définition d'organisme pathogène, qui en écologie prend un sens différent de celui utilisé en agronomie. Cette notion renvoie à une réalité non binaire complexe telle que pour *Fusarium oxysporum* (Steinberg et al., 2016), pouvant altérer la fitness de la tomate, mais également occuper les niches écologiques de souches plus agressives par des souches non pathogènes, évitant ainsi des pertes de rendement considérables. Le symptôme est ainsi un marqueur de déséquilibre, la conséquence d'un changement d'état d'équilibre sain vers une dysbiose (Chen et al., 2020), provoqué par une perturbation liée à un stress environnemental, plus qu'un indicateur de performance agronomique du système (Garrett et al., 2006). En outre, des souches bactériennes appartenant au genre *Pseudomonas* sont décrites comme omniprésentes dans les sols et la rhizosphère et sont impliquées dans le contrôle d'agents pathogènes telluriques tels que *Fusarium sp.* (Weller et al., 2007). Le séquençage du microbiome racinaire bactérien et des analyses pathologiques plus poussées pourraient confirmer l'hypothèse d'une adaptation des plantes aux pathogènes induite par la structuration du microbiome (Vannier et al., 2019).



Le phylum des Glomérormycètes possède de nombreuses propriétés intéressantes d'un point de vue agro-écologique : amélioration de la qualité et de la structure du sol, (Gianinazzi et al., 2010), nutrition minérale et hydrique des plantes (Smith & Read, 2008) et amélioration systémique de la résistance des plantes envers les pathogènes (Pozo & Azcon-Aguilar 2007). Leur plus grande abondance et diversification dans la modalité non agroforestière pose la question des mécanismes de recrutement des AMFs et plus particulièrement de l'influence des arbres sur celui-ci, notamment par une modification probable des concentrations en nutriments, du pH et de la structure du sol qui contribuent à la formation de niches écologiques plus ou moins favorables à leur développement. D'autre part, Hausmann & Hawkes (2009) montrent l'importance des espèces végétales avoisinant la plante hôte sur le recrutement des Glomérormycètes. Dans notre dispositif, la présence des noyers hybrides pourrait influencer le recrutement des AMF également par la sécrétion de composés allélopathiques tels que la juglone. Les connaissances sur le sujet sont encore limitées (Clark et al., 1990) et invitent d'une part à analyser l'assemblage du microbiome racinaire du noyer hybride pour mieux comprendre la structuration des communautés fongiques en milieu agroforestier, et d'autre part à étudier l'influence de la juglone sur le recrutement des microorganismes. En ce sens, l'étude du microbiome bactérien apporterait d'autres éléments de compréhension, puisque certains taxa auraient la capacité de dégrader la juglone (Schmidt, 1988).

#### *La structuration du mycobiote racinaire semble modifier la composition biochimique des tomates*

Concernant les corrélations réalisées entre la composition biochimique et les indices de diversité, celles-ci permettent d'avoir un premier aperçu du lien entre le profil biochimique des fruits et la structuration des communautés microbiotiques. Le lien supposé entre la richesse spécifique des Glomérormycètes et la qualité des fruits concorde avec les résultats de Castañeda et al. (2020), qui montrent que l'inoculation avec des AMFs améliore significativement la qualité nutritionnelle des tomates. Cependant, en raison du plan d'échantillonnage, ces corrélations n'ont pu être établies qu'à partir de moyennes à l'échelle modalité\*variété, les informations concernant la placette n'ayant pas été conservées lors des analyses biochimiques car non déterminantes. Ces résultats offrent malgré tout une première idée des possibles liens et interactions entre le microbiome racinaire et la qualité des fruits et invitent à poursuivre ces réflexions (Reeve et al., 2016). Ainsi, l'hypothèse d'une relation entre qualité des fruits et microbiote qui peut être émise sur la base de ce travail préliminaire pourrait être confirmée par des expérimentations complémentaires, associant des dispositifs en conditions contrôlées pour quantifier l'effet de différents niveaux d'inoculations d'AMF sur la composition biochimique des tomates à un dispositif expérimental au champ structuré en blocs tout en contenant le nombre de co-variables.

#### *Vers une amélioration des plantes hologénomique ?*

L'ubiquité de l'existence de symbioses chez les organismes pluricellulaires et l'importance de ces symbioses pour la fitness de leur hôte (Margulis, 1981) a conduit à l'émergence du concept d'holobionte, l'hôte et ses symbiotes considérés formant l'entité émergente qu'est l'individu (plante ou animal), et à l'émergence de la théorie associée, la théorie de l'hologénome (Zilber-Rosenberg & Rosenberg, 2008 ; Bordenstein & Theis, 2015) correspondant à la composante génétique de l'holobionte. La plante vue comme un holobionte implique l'acceptation que la plante n'est pas une entité autonome mais que ses symbiotes soient clés dans sa survie et sa reproduction (Vandenkoornhuyse et al., 2015). De fait, des variations dans l'hologénome implique des changements génétiques dans sa composante génomique végétale ou microbienne. Il en résulte que les microorganismes sont une source supplémentaire de variabilité pour la sélection (Wei & Jousset, 2017).



Ainsi, lorsque l'on considère la fitness et la performance de l'holobionte, il ne faut pas seulement prendre en compte les allèles de la plante et des microorganismes conférant des traits avantageux, mais aussi la capacité de la plante s'associer, héberger et interagir avec les microorganismes. Les résultats d'une sélection intégrant les microorganismes reposent donc sur une conception élargie des conditions environnementales, en ajoutant aux facteurs biotiques et abiotiques classiques des facteurs biochimiques, physiologiques et cellulaires au niveau de l'hôte, la composition des exsudats racinaires dans le sol, ainsi que la composition et la densité des communautés microbiennes (Nogales et al., 2016). Cela implique également qu'un génotype végétal puisse conduire non pas à un seul phénotype entièrement prévisible, mais à une gamme de phénotypes variables en fonction du microbiome qui lui est associé (Cheplick, 1997 ; Friesen et al., 2011). La variation conférée par certains microorganismes pouvant être transmise à la descendance (Peiffer et al., 2013), on pourrait donc envisager celle-ci comme une nouvelle cible de sélection, en agissant notamment sur la dépendance et la réactivité de la plante à son microbiome (Duhamel & Vandenkoornhuyse, 2013).

Les modifications phénotypiques de la plante par le microbiome sont très largement négligées par les outils génétiques actuels : les cartographies de QTL et les approches de GWAS passent au dessus de la complexité des traits d'interactions, aboutissant alors à des associations faibles ou relativement peu applicables par les sélectionneurs (Nogales et al., 2016). Une approche hologénomique permettrait en outre une meilleure compréhension du déterminisme de certains traits complexes, tels que la stabilité du rendement. Le terme "stabilité" renvoie ici aux performances significativement plus élevées de certains génotypes confrontés à différents environnements (Romagosa & Fox, 1993) : un phénotype stable est moins affecté par les interactions entre génotype et environnement (GxE). Cependant, seulement une faible part des GxE peut être attribuée à des déterminants environnementaux connus, tandis que la majeure partie est une quantité dérivée d'analyses statistiques des composantes de rendement à laquelle on ne peut attribuer une interprétation biologique. Ces variations inexplicables du rendement font référence à des fluctuations de son expression phénotypique, en dépit de la stabilité du génotype considéré (Becker & Leon, 1988). Il est probable que les communautés microbiennes soient responsables d'une part considérable de cette variabilité inexplicée. La sélection pourrait atteindre une meilleure stabilité phénotypique - et plus largement de meilleures performances - sous l'hypothèse holobionte (Nogales et al., 2016). Par la prise en compte de la co-évolution entre la plante et son environnement biotique et abiotique, il est intéressant de formuler l'hypothèse selon laquelle la sélection paysanne porte par essence sur des holobiontes plus que sur des organismes uniquement végétaux. L'étude des conséquences de différentes stratégies de sélection sur les communautés de micro-organismes pourrait soutenir cette hypothèse lors de futurs travaux.

## **Conclusion**

Les interactions entre les plantes et leur microbiote sont un champ de recherche en pleine expansion, qui aujourd'hui permet d'entrevoir l'importance des micro-organismes pour l'amélioration des plantes associée à des pratiques agroécologiques (Gianinazzi et al., 2010). La complexité des mécanismes sous-jacents à la structuration des communautés symbiotiques, associée à l'influence du microbiote sur la fitness de la plante, invitent ainsi à un changement de paradigme, entre une vision généralement réductionniste et une vision d'avantage holiste, pour une prise en compte des micro-organismes dans la sélection (Duhamel & Vandenkoornhuyse, 2013 ; Wei & Jousset, 2017). Les résultats présentés dans ce mémoire valident, dans le contexte d'un système agroforestier, plusieurs hypothèses appuyant la nécessité de ce changement : l'intensité de taille appliquée aux arbres modifie la qualité biochimique des fruits et peut ainsi être un levier agronomique d'amélioration des plantes, modulant par ailleurs l'assemblage des communautés fongiques associées aux tomates et de ce fait les potentiels



avantages adaptatifs qu'ils leur confèrent. Cette étude montre également que la sélection paysanne maintient des profils biochimiques différents entre les deux variétés étudiées, mais ne permet pas de vérifier l'effet de la sélection paysanne sur le recrutement des micro-organismes. Le travail préliminaire portant sur les corrélations entre structuration du microbiote racinaire et qualité des fruits est une première étape qui nécessite d'être complétée par des analyses associant expérimentations en conditions contrôlées et au champ afin de valider cette hypothèse.

L'étude des interactions entre plantes et micro-organismes au sein de l'écosystème agroforestier de la ferme du Roumassouze se prête aux travaux de recherche participative, qui par la diversité et la complémentarité des compétences entre les différentes équipes impliquées permet d'approfondir la connaissance des mécanismes de chaque composante inhérente au système pour aboutir à une vision holiste de son fonctionnement agroécologique. Entre autres, une caractérisation et un dosage des composés allélopathiques liés à l'implantation du noyer hybride en comparaison avec d'autres essences d'arbres sur la qualité des fruits et la structuration du microbiome serait par exemple un axe à approfondir, tout comme l'impact de différentes stratégies de sélections sur les mécanismes de recrutement des micro-organismes de la tomate.



## Bibliographie

### Articles

- Aleklett, K., Leff, J. W., Fierer, N., & Hart, M. (2015). Wild plant species growing closely connected in a subalpine meadow host distinct root-associated bacterial communities. *PeerJ*, 3, e804.
- Andreo-Jimenez, B., Vandenkoornhuysen, P., Lê Van, A., Heutinck, A., Duhamel, M., Kadam, N., ... & Bouwmeester, H. (2019). Plant host and drought shape the root associated fungal microbiota in rice. *PeerJ*, 7, e7463.
- Artursson, V., Finlay, R. D., & Jansson, J. K. (2006). Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environmental microbiology*, 8(1), 1-10.
- Bailly, A., & Weiskopf, L. (2012). The modulating effect of bacterial volatiles on plant growth: current knowledge and future challenges. *Plant signaling & behavior*, 7(1), 79-85.
- Becker, H. C., & Leon, J. (1988). Stability analysis in plant breeding. *Plant breeding*, 101(1), 1-23.
- Bergna, A., Cernava, T., Rändler, M., Grosch, R., Zachow, C., & Berg, G. (2018). Tomato seeds preferably transmit plant beneficial endophytes. *Phytobiomes Journal*, 2(4), 183-193.
- Bolnick, D. I., Amarasekare, P., Araújo, M. S., Bürger, R., Levine, J. M., Novak, M., ... & Vasseur, D. A. (2011). Why intraspecific trait variation matters in community ecology. *Trends in ecology & evolution*, 26(4), 183-192.
- Bona, E., Cantamessa, S., Massa, N., Manassero, P., Marsano, F., Copetta, A., ... & Berta, G. (2017). Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting pseudomonads improve yield, quality and nutritional value of tomato: a field study. *Mycorrhiza*, 27(1), 1-11.
- Bona, E., Lingua, G., Manassero, P., Cantamessa, S., Marsano, F., Todeschini, V., ... & Gamalero, E. (2015). AM fungi and PGP pseudomonads increase flowering, fruit production, and vitamin content in strawberry grown at low nitrogen and phosphorus levels. *Mycorrhiza*, 25(3), 181-193.
- Bonneuil C., Demeulenaere E., Thomas F., Joly P.B., Allaire G., Goldringer I., (2006). Innover autrement? La recherche face à l'avènement d'un nouveau régime de production et de régulation des savoirs en génétique végétale. *Dossiers de l'environnement de l'INRA*, pp.29-51. (hal-00175993)
- Bordenstein, S. R., & Theis, K. R. (2015). Host biology in light of the microbiome: ten principles of holobionts and hologenomes. *PLoS Biol*, 13(8), e1002226.
- Borneman, J., & Hartin, R. J. (2000). PCR primers that amplify fungal rRNA genes from environmental samples. *Applied and environmental microbiology*, 66(10), 4356-4360.
- Bulgarelli, D., Garrido-Oter, R., Münch, P. C., Weiman, A., Dröge, J., Pan, Y., & Schulze-Lefert, P. (2015). Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley. *Cell host & microbe*, 17(3), 392-403.
- Bulgarelli, D., Rott, M., Schlaeppi, K., van Themaat, E. V. L., Ahmadinejad, N., Assenza, F. & Peplies, J. (2012). Revealing structure and assembly cues for Arabidopsis root-inhabiting bacterial microbiota. *Nature*, 488(7409), 91-95.
- Cabell, J. F., & Oelofse, M. (2012). An indicator framework for assessing agroecosystem resilience. *Ecology and Society*, 17(1).



- Cadotte, M. W., Carscadden, K., & Mirotchnick, N. (2011). Beyond species: functional diversity and the maintenance of ecological processes and services. *Journal of applied ecology*, 48(5), 1079-1087.
- Castañeda, W., Toro, M., Solorzano, A., & Zúñiga-Dávila, D. (2020). Production and Nutritional Quality of Tomatoes (*Solanum lycopersicum* var. *Cerasiforme*) Are Improved in the Presence of Biochar and Inoculation with Arbuscular Mycorrhizae. *American Journal of Plant Sciences*, 11(3), 426-436.
- Chable, V., & Berthelot, J. F. (2006). La sélection participative en France: présentation des expériences en cours pour les agricultures biologiques et paysannes. *Le courrier de l'environnement de l'INRA*, 30, 129-138.
- Chable, V., & Serpolay, E. (2016). Recherche multi-acteurs et transdisciplinaire pour des systèmes alimentaires bio et locaux. *Techniques de l'Ingénieur. Eco-Conception et Innovation Responsable*.
- Chable, V., Nuijten, E., Costanzo, A., Goldringer, I., Bocci, R., Oehen, B., ... & Koller, B. (2020). Embedding cultivated diversity in society for agro-ecological transition. *Sustainability*, 12(3), 784.
- Chen, K. Y., Cong, B., Wing, R., Vrebalov, J., & Tanksley, S. D. (2007). Changes in regulation of a transcription factor lead to autogamy in cultivated tomatoes. *Science*, 318(5850), 643-645.
- Chen, T., Nomura, K., Wang, X., Sohrabi, R., Xu, J., Yao, L., ... & Zhang, L. (2020). A plant genetic network for preventing dysbiosis in the phyllosphere. *Nature*, 580(7805), 653-657.
- Cheplick, G. P. (1997). Effects of endophytic fungi on the phenotypic plasticity of *Lolium perenne* (Poaceae). *American Journal of Botany*, 84(1), 34-40.
- Clark, A. M., Jurgens, T. M., & Hufford, C. D. (1990). Antimicrobial activity of juglone. *Phytotherapy Research*, 4(1), 11-14.
- Compant, S., Samad, A., Faist, H., & Sessitsch, A. (2019). A review on the plant microbiome: ecology, functions and emerging trends in microbial application. *Journal of advanced research*.
- Copetta, A., Bardi, L., Bertolone, E., & Berta, G. (2011). Fruit production and quality of tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.) are affected by green compost and arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant biosystems*, 145(1), 106-115.
- Döring, T. F., Vieweger, A., Pautasso, M., Vaarst, M., Finckh, M. R., & Wolfe, M. S. (2015). Resilience as a universal criterion of health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(3), 455-465.
- Duhamel, M., & Vandenkoornhuyse, P. (2013). Sustainable agriculture: possible trajectories from mutualistic symbiosis and plant neodomestication. *Trends in plant science*, 18(11), 597-600.)
- Egidi, E., Delgado-Baquerizo, M., Plett, J. M., Wang, J., Eldridge, D. J., Bardgett, R. D., ... & Singh, B. K. (2019). A few Ascomycota taxa dominate soil fungal communities worldwide. *Nature communications*, 10(1), 1-9.
- Enjalbert, J., Dawson, J. C., Paillard, S., Rhoné, B., Rousselle, Y., Thomas, M., & Goldringer, I. (2011). Dynamic management of crop diversity: From an experimental approach to on-farm conservation. *Comptes rendus biologies*, 334(5-6), 458-468.
- Escudié, F., Auer, L., Bernard, M., Mariadassou, M., Cauquil, L., Vidal, K., ... & Pascal, G. (2018). FROGS: find, rapidly, Clusters de séquences with galaxy solution. *Bioinformatics*, 34(8), 1287-1294.



- Fierer, N. (2017). Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 15(10), 579.
- Friesen, M. L., Porter, S. S., Stark, S. C., Von Wettberg, E. J., Sachs, J. L., & Martinez-Romero, E. (2011). Microbially mediated plant functional traits. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, 42, 23-46.
- Garrett, K. A., Dendy, S. P., Frank, E. E., Rouse, M. N., & Travers, S. E. (2006). Climate change effects on plant disease: genomes to ecosystems. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 44, 489-509.
- Gautier, H., Diakou-Verdin, V., Bénard, C., Reich, M., Buret, M., Bourgaud, F., ... & Génard, M. (2008). How does tomato quality (sugar, acid, and nutritional quality) vary with ripening stage, temperature, and irradiance?. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(4), 1241-1250.
- Gianinazzi, S., Gollotte, A., Binet, M. N., van Tuinen, D., Redecker, D., & Wipf, D. (2010). Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza*, 20(8), 519-530.
- Goldringer, I., van Frank, G., Bouvier d'Yvoire, C., Forst, E., Galic, N., Garnault, M., ... & Berthelot, J. F. (2020). Agronomic evaluation of bread wheat varieties from participatory breeding: A combination of performance and robustness. *Sustainability*, 12(1), 128.
- Hacquard, S., Garrido-Oter, R., González, A., Spaepen, S., Ackermann, G., Lebeis, S., ... & Schulze-Lefert, P. (2015). Microbiota and host nutrition across plant and animal kingdoms. *Cell host & microbe*, 17(5), 603-616.
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). Trichoderma species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature reviews microbiology*, 2(1), 43-56.
- Hart, M., Ehret, D. L., Krumbein, A., Leung, C., Murch, S., Turi, C., & Franken, P. (2015). Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi improves the nutritional value of tomatoes. *Mycorrhiza*, 25(5), 359-376.
- Hartmann, M., Frey, B., Mayer, J., Mäder, P., & Widmer, F. (2015). Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. *The ISME journal*, 9(5), 1177-1194.
- Hausmann, N. T., & Hawkes, C. V. (2009). Plant neighborhood control of arbuscular mycorrhizal community composition. *New Phytologist*, 183(4), 1188-1200.
- Hernández, V., Hellín, P., Fenoll, J., & Flores, P. (2019). Interaction of nitrogen and shading on tomato yield and quality. *Scientia Horticulturae*, 255, 255-259.
- Hooper, D. U., Chapin, F. S., Ewel, J. J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., ... & Schmid, B. (2005). Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological monographs*, 75(1), 3-35.
- Hopkins, S. R., Wojdak, J. M., & Belden, L. K. (2017). Defensive symbionts mediate host–parasite interactions at multiple scales. *Trends in parasitology*, 33(1), 53-64.
- Huang, W., Luukkanen, O., Johanson, S., Kaarakka, V., Räisänen, S., & Vihemäki, H. (2002). Agroforestry for biodiversity conservation of nature reserves: functional group identification and analysis. *Agroforestry systems*, 55(1), 65-72.
- Hughes, A. R., Inouye, B. D., Johnson, M. T., Underwood, N., & Vellend, M. (2008). Ecological consequences of genetic diversity. *Ecology letters*, 11(6), 609-623.
- Jarquín-Enríquez, L., Mercado-Silva, E. M., Maldonado, J. L., & Lopez-Baltazar, J. (2013). Lycopene content and color index of tomatoes are affected by the greenhouse cover. *Scientia Horticulturae*, 155, 43-48.



- Johnson, P. T., Ostfeld, R. S., & Keesing, F. (2015). Frontiers in research on biodiversity and disease. *Ecology letters*, *18*(10), 1119-1133.
- Jung, V., Violle, C., Mondy, C., Hoffmann, L., & Muller, S. (2010). Intraspecific variability and trait-based community assembly. *Journal of ecology*, *98*(5), 1134-1140.
- Keith, A. M., Van der Wal, R., Brooker, R. W., Osler, G. H., Chapman, S. J., Burslem, D. F., & Elston, D. A. (2008). Increasing litter species richness reduces variability in a terrestrial decomposer system. *Ecology*, *89*(9), 2657-2664.
- Kellner, H., & Vandenbol, M. (2010). Fungi unearthed: transcripts encoding lignocellulolytic and chitinolytic enzymes in forest soil. *PLoS One*, *5*(6), e10971.
- Khan, A. R., Goldringer, I., & Thomas, M. (2020). Management Practices and Breeding History of Varieties Strongly Determine the Fine Genetic Structure of Crop Populations: A Case Study Based on European Wheat Populations. *Sustainability*, *12*(2), 613.
- Khoury, C. K., Bjorkman, A. D., Dempewolf, H., Ramirez-Villegas, J., Guarino, L., Jarvis, A., ... & Struik, P. C. (2014). Increasing homogeneity in global food supplies and the implications for food security. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*(11), 4001-4006.
- Kwak, M. J., Kong, H. G., Choi, K., Kwon, S. K., Song, J. Y., Lee, J., ... & Jung, E. J. (2018). Rhizosphere microbiome structure alters to enable wilt resistance in tomato. *Nature biotechnology*, *36*(11), 1100-1109.
- Lammerts van Bueren, E. T., Struik, P. C., Eekeren, N. V., & Nuijten, E. (2018). Towards resilience through systems-based plant breeding. A review. *Agronomy for sustainable development*, *38*(42), 1-21.
- Lê Van, A., Quaiser, A., Duhamel, M., Michon-Coudouel, S., Dufresne, A., & Vandenkoornhuyse, P. (2017). Ecophylogeny of the endospheric root fungal microbiome of co-occurring *Agrostis stolonifera*. *PeerJ*, *5*, e3454.
- Lebeis, S. L., Paredes, S. H., Lundberg, D. S., Breakfield, N., Gehring, J., McDonald, M. & Dangl, J. L. (2015). Salicylic acid modulates colonization of the root microbiome by specific bacterial taxa. *Science*, *349*(6250), 860-864.
- Leeman, M., Van Pelt, J. A., Den Ouden, F. M., Heinsbroek, M., Bakker, P. A. H. M., & Schippers, B. (1995). Induction of systemic resistance against *Fusarium* wilt of radish by lipopolysaccharides of *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology*, *85*(9), 1021-1027.
- Litrico, I., & Violle, C. (2015). Diversity in plant breeding: a new conceptual framework. *Trends in Plant Science*, *20*(10), 604-613.
- Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J. P., Hector, A., & Tilman, D. (2001). Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. *science*, *294*(5543), 804-808.
- Louwaars, N. P. (2018). Plant breeding and diversity: A troubled relationship?. *Euphytica*, *214*(7), 114.
- Lundberg, D. S., Lebeis, S. L., Paredes, S. H., Yourstone, S., Gehring, J., Malfatti, S., ... & Edgar, R. C. (2012). Defining the core *Arabidopsis thaliana* root microbiome. *Nature*, *488*(7409), 86-90.
- Mahé, F., Rognes, T., Quince, C., de Vargas, C., & Dunthorn, M. (2014). Swarm: robust and fast clustering method for amplicon-based studies. *PeerJ*, *2*, e593.
- Mahé, S., Duhamel, M., Le Calvez, T., Guillot, L., Sarbu, L., Bretaudeau, A., ... & Vandenkoornhuyse, P. (2012). PHYMYCO-DB: a curated database for analyses of fungal diversity and evolution. *PLoS One*, *7*(9), e43117.



- Marconi, O., Floridi, S., & Montanari, L. (2007). Organic acids profile in tomato juice by HPLC with UV detection. *Journal of food quality*, 30(2), 253-266.
- Martí, R., Leiva-Brondo, M., Lahoz, I., Campillo, C., Cebolla-Cornejo, J., & Roselló, S. (2018). Polyphenol and L-ascorbic acid content in tomato as influenced by high lycopene genotypes and organic farming at different environments. *Food chemistry*, 239, 148-156.
- Mony, C., Brunellière, P., Vannier, N., Bittebiere, A. K., & Vandenkoornhuysse, P. (2020). Effect of floristic composition and configuration on plant root mycobiota: a landscape transposition at a small scale. *New Phytologist*, 225(4), 1777-1787.
- Moonen, A. C., & Barberi, P. (2008). Functional biodiversity: an agroecosystem approach. *Agriculture, ecosystems & environment*, 127(1-2), 7-21.
- Murphy, K., Lammer, D., Lyon, S., Carter, B., & Jones, S. S. (2005). Breeding for organic and low-input farming systems: An evolutionary-participatory breeding method for inbred cereal grains. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 20(1), 48-55.
- Nogales, A., Nobre, T., Valadas, V., Ragonezi, C., Döring, M., Polidoros, A., & Arnholdt-Schmitt, B. (2016). Can functional hologenomics aid tackling current challenges in plant breeding?. *Briefings in functional genomics*, 15(4), 288-297.
- Nuijten, E., Messmer, M. M., & Lammerts van Bueren, E. T. (2017). Concepts and strategies of organic plant breeding in light of novel breeding techniques. *Sustainability*, 9(1), 18.
- Nzanza, B., Marais, D., & Soundy, P. (2012). Yield and nutrient content of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) as influenced by *Trichoderma harzianum* and *Glomus mosseae* inoculation. *Scientia horticultrae*, 144, 55-59.
- Østergård, H., Finckh, M. R., Fontaine, L., Goldringer, I., Hoad, S. P., Kristensen, K. & Wolfe, M. S. (2009). Time for a shift in crop production: embracing complexity through diversity at all levels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(9), 1439-1445.
- Ottesen, A. R., Peña, A. G., White, J. R., Pettengill, J. B., Li, C., Allard, S., ... & Strain, E. (2013). Baseline survey of the anatomical microbial ecology of an important food plant: *Solanum lycopersicum* (tomato). *BMC microbiology*, 13(1), 114.
- Pautasso, M., Holdenrieder, O., & Stenlid, J. (2005). Susceptibility to fungal pathogens of forests differing in tree diversity. In *Forest diversity and function* (pp. 263-289). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Peiffer, J. A., Spor, A., Koren, O., Jin, Z., Tringe, S. G., Dangl, J. L., ... & Ley, R. E. (2013). Diversity and heritability of the maize rhizosphere microbiome under field conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(16), 6548-6553.
- Pérez-Jaramillo, J. E., Mendes, R., & Raaijmakers, J. M. (2016). Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions. *Plant molecular biology*, 90(6), 635-644.
- Pozo, M. J., & Azcón-Aguilar, C. (2007). Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Current opinion in plant biology*, 10(4), 393-398.
- Quandt, A., Neufeldt, H., & McCabe, J. T. (2019). Building livelihood resilience: what role does agroforestry play?. *Climate and Development*, 11(6), 485-500.



- Rasche, F., Hödl, V., Poll, C., Kandeler, E., Gerzabek, M. H., Van Elsas, J. D., & Sessitsch, A. (2006). Rhizosphere bacteria affected by transgenic potatoes with antibacterial activities compared with the effects of soil, wild-type potatoes, vegetation stage and pathogen exposure. *FEMS microbiology ecology*, *56*(2), 219-235.
- Reif, J. C., Zhang, P., Dreisigacker, S., Warburton, M. L., van Ginkel, M., Hoisington, D., & Melchinger, A. E. (2005). Wheat genetic diversity trends during domestication and breeding. *Theoretical and Applied Genetics*, *110*(5), 859-864.
- Rivest, D., Lorente, M., Olivier, A., & Messier, C. (2013). Soil biochemical properties and microbial resilience in agroforestry systems: effects on wheat growth under controlled drought and flooding conditions. *Science of the total environment*, *463*, 51-60.
- Rolland, F., Baena-Gonzalez, E., & Sheen, J. (2006). Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. *Annu. Rev. Plant Biol.*, *57*, 675-709.
- Romagosa, I., & Fox, P. N. (1993). Genotype × environment interaction and adaptation. In *Plant breeding* (pp. 373-390). Springer, Dordrecht.
- Schmidt, S. K. (1988). Degradation of juglone by soil bacteria. *Journal of chemical ecology*, *14*(7), 1561-1571.
- Sgroy, V., Cassán, F., Masciarelli, O., Del Papa, M. F., Lagares, A., & Luna, V. (2009). Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting (PGPB) or stress homeostasis-regulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte *Prosopis strombulifera*. *Applied microbiology and Biotechnology*, *85*(2), 371-381.
- Sneh, B., Dupler, M., Elad, Y., & Baker, R. (1984). Chlamydospore germination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* as affected by fluorescent and lytic bacteria from a *Fusarium*-suppressive soil. *Phytopathology*, *74*(9), 1115-1124.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS microbiology reviews*, *31*(4), 425-448.
- Steinberg, C., Lecomte, C., Alabouvette, C., & Edel-Hermann, V. (2016). Root interactions with nonpathogenic *Fusarium oxysporum*. In *Belowground Defence Strategies in Plants* (pp. 281-299). Springer, Cham.
- Stukenbrock, E. H., & McDonald, B. A. (2008). The origins of plant pathogens in agro-ecosystems. *Annu. Rev. Phytopathol.*, *46*, 75-100.
- Thomas, M., Demeulenaere, E., Dawson, J. C., Khan, A. R., Galic, N., Jouanne-Pin, S. & Goldringer, I. (2012). On-farm dynamic management of genetic diversity: the impact of seed diffusions and seed saving practices on a population-variety of bread wheat. *Evolutionary applications*, *5*(8), 779-795.
- Tian, B. Y., Cao, Y., & Zhang, K. Q. (2015). Metagenomic insights into communities, functions of endophytes and their associates with infection by root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, in tomato roots. *Scientific reports*, *5*(1), 1-15.
- Tian, B., Zhang, C., Ye, Y., Wen, J., Wu, Y., Wang, H., ... & Lei, S. (2017). Beneficial traits of bacterial endophytes belonging to the core communities of the tomato root microbiome. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, *247*, 149-156.
- Tilman, D., Lehman, C. L., & Thomson, K. T. (1997). Plant diversity and ecosystem productivity: theoretical considerations. *Proceedings of the national academy of sciences*, *94*(5), 1857-1861.



- Treseder, K. K., & Lennon, J. T. (2015). Fungal traits that drive ecosystem dynamics on land. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(2), 243-262.
- Trutmann, P., & Nelson, E. B. (1992). Production of non-volatile and volatile inhibitors of *Pythium ultimum* sporangium germination and mycelial growth by strains of *Enterobacter cloacae*. *Phytopathology*, 82(1120).
- van Frank, G., Rivi re, P., Pin, S., Baltassat, R., Berthelot, J. F., Caizergues, F., ... & Montaz, H. (2020). Genetic Diversity and Stability of Performance of Wheat Population Varieties Developed by Participatory Breeding. *Sustainability*, 12(1), 384.
- van Peer, R., Niemann, G. J., & Schippers, B. (1991). Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of Fusarium wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS 417 r. *Phytopathology*, 81(7), 728-734.
- Vandenkoornhuyse, P., Quaiser, A., Duhamel, M., Le Van, A., & Dufresne, A. (2015). The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytologist*, 206(4), 1196-1206.
- Vannier, N., Agler, M., & Hacquard, S. (2019). Microbiota-mediated disease resistance in plants. *PLoS pathogens*, 15(6), e1007740.
- Vernooy, R. (2003). Seeds that give : participatory plant breeding. *Ottawa, IDRC*.
- Violle, C., Enquist, B. J., McGill, B. J., Jiang, L. I. N., Albert, C. H., Hulshof, C., & Messier, J. (2012). The return of the variance: intraspecific variability in community ecology. *Trends in ecology & evolution*, 27(4), 244-252.
- Violle, C., & Jiang, L. (2009). Towards a trait-based quantification of species niche. *Journal of Plant Ecology*, 2(2), 87-93
- Violle, C., Navas, M. L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., & Garnier, E. (2007). Let the concept of trait be functional!. *Oikos*, 116(5), 882-892.
- Wei, Z., & Jousset, A. (2017). Plant breeding goes microbial. *Trends in Plant Science*, 22(7), 555-558.
- Weller, D. M. (2007). *Pseudomonas* biocontrol agents of soilborne pathogens: looking back over 30 years. *Phytopathology*, 97(2), 250-256.
- Zilber-Rosenberg, I., & Rosenberg, E. (2008). Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: the hologenome theory of evolution. *FEMS microbiology reviews*, 32(5), 723-735.

## Livres

- Bonneuil, C., & Thomas, F. (2009). *G nes, pouvoirs et profits: recherche publique et r gimes de production des savoirs de Mendel aux OGM*.  ditions Quae
- Ceccarelli, S. (2016). Increasing plant breeding efficiency through evolutionary-participatory programs. In *More Food: Road to Survival* (pp. 17-40); *Pilu, R., Gavazzi, G., Eds* Bentham
- Chable, V., Dawson, J., Bocci, R., & Goldringer, I. (2014). Seeds for organic agriculture: Development of participatory plant breeding and farmers' networks in France. In *Organic farming, prototype for sustainable agricultures* (pp. 383-400). Springer, Dordrecht.
- Margulis, L. (1981). Symbiosis in cell evolution: Life and its environment on the early earth. *Boston University Boston, MA, United States*



Reeve, J. R., Hoagland, L. A., Villalba, J. J., Carr, P. M., Atucha, A., Cambardella, C., ... & Delate, K. (2016). Organic farming, soil health, and food quality: considering possible links. In *Advances in agronomy* (Vol. 137, pp. 319-367). Academic Press.

Smith, S. E., & Read, D. J. (2010). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic press.

### **Sites**

IFOAM (2005). The *principles of organic agriculture*. <https://www.ifoam.bio/en/organic-landmarks/principles-organic-agriculture> [Consulté le 31/03/2020]

RSP (2009). *Les semences paysannes*. <https://www.semencespaysannes.org/les-semences-paysannes.html> [Consulté le 13/05/2020]



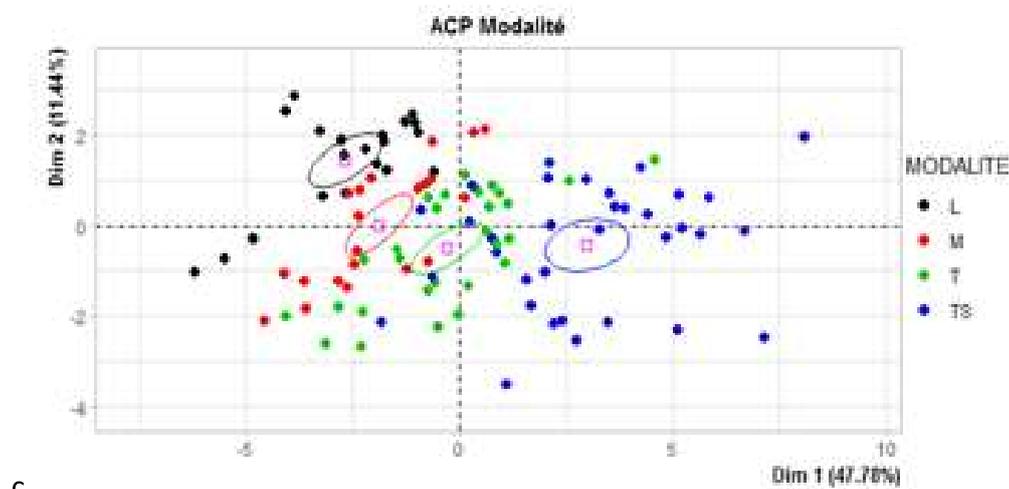
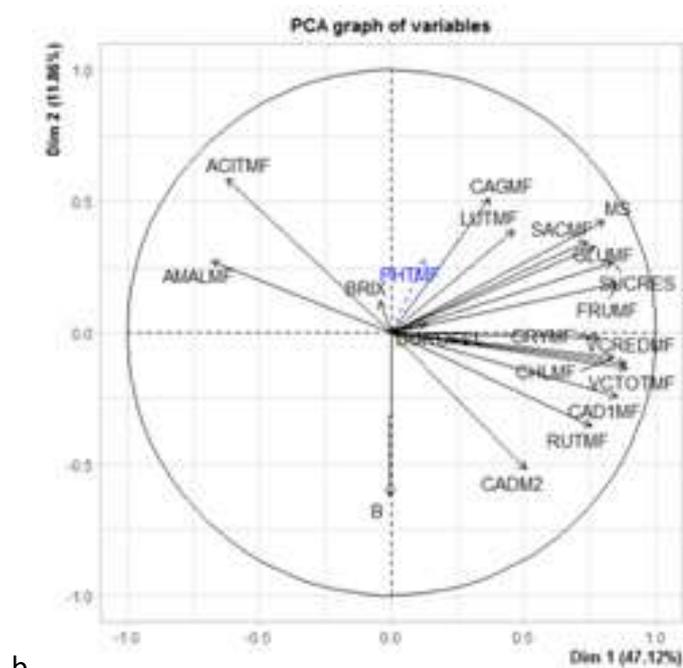
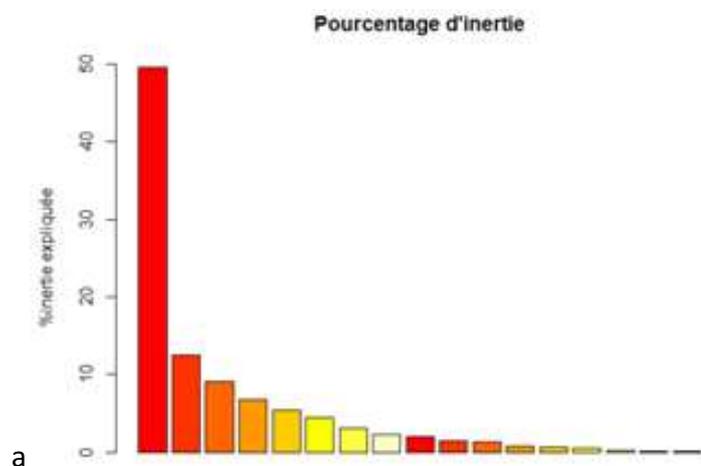
## Annexes

Annexe 1 : Variations intra et inter variétés des descripteurs biochimiques pour lesquels l'effet variétal est significatif. Pour chaque descripteur, la variance la plus élevée est notée en gras.

Descripteur	Variance		
	Cœur de Bœuf	Rose de Berne	Totale
Matière sèche	<b>0,96</b>	0,44	0,74
Sucres	27,46	<b>28,48</b>	28,29
Glucose	<b>6,36</b>	5,55	5,99
Fructose	6,67	<b>8,06</b>	7,46
Saccharose	0,09	0,08	<b>0,09</b>
Vitamine C (totale)	4101,30	<b>4905,84</b>	4615,39
Vitamine C (réduite)	3480,19	<b>4190,65</b>	3945,68
Acide citrique	1,02	<b>1,61</b>	1,41
Acide caféique glucoside	6,82	9,40	<b>10,64</b>
Acide chlorogénique	295,38	<b>337,45</b>	329,74
Dérivés acide caféique 1	<b>10,97</b>	8,70	9,67
Dérivés acide caféique 2	<b>12,42</b>	3,07	8,15
Rutine	<b>740,94</b>	522,00	611,33
Acide cryptochlorogénique	13,22	13,07	<b>13,55</b>
Lutéine	0,08	0,07	<b>0,09</b>
Phytoène	14,23	11,29	<b>14,89</b>
Brix	<b>0,54</b>	0,19	0,38
A	10,33	<b>15,95</b>	13,42
B	17,20	4,70	<b>56,13</b>
Durofel	<b>72,43</b>	42,17	55,21

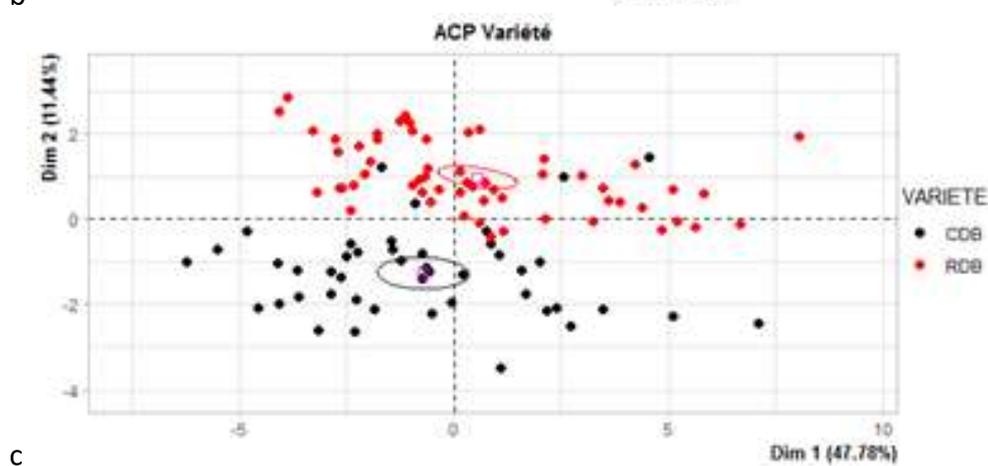
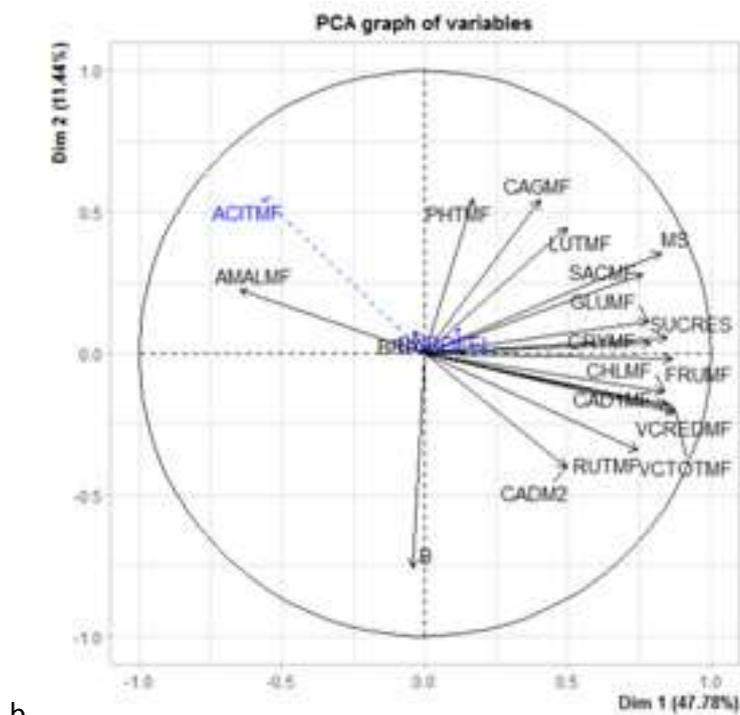
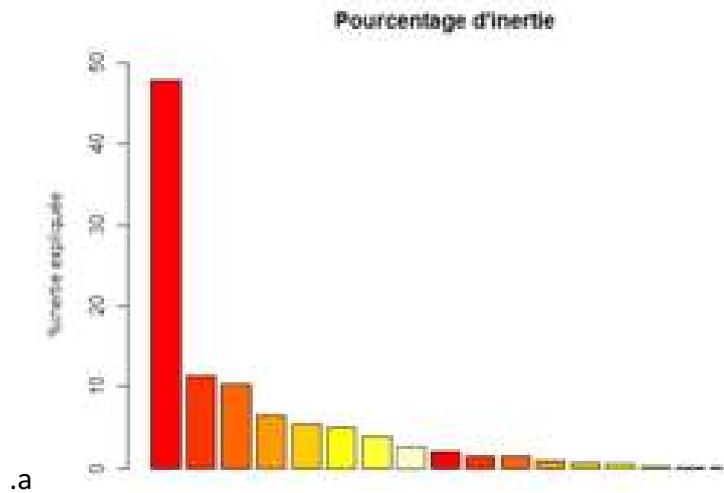


Annexe 2 : Pourcentage d'inertie (a), cercle de corrélations (b) projection des individus (c) pour les variables biochimiques selon le facteur modalité de taille. Les modalités sont codées comme suit : L (élagué), M (émondé), T (têtard), TS (témoin soleil).



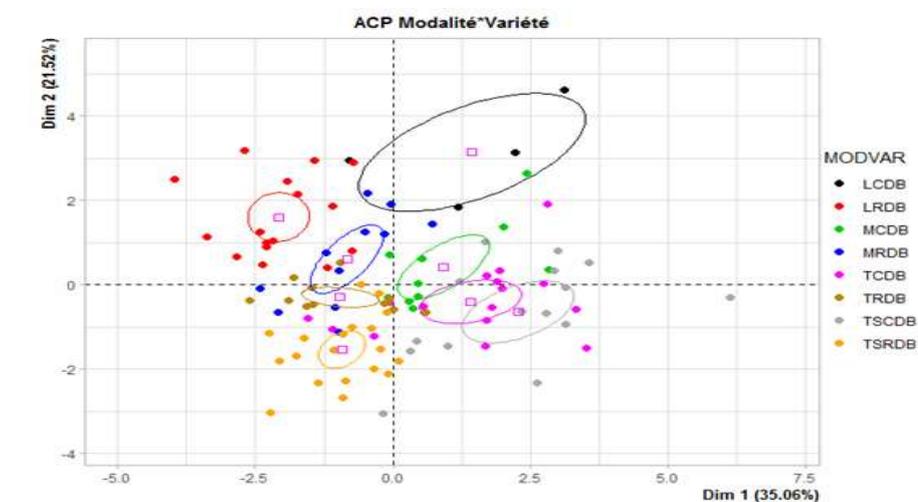
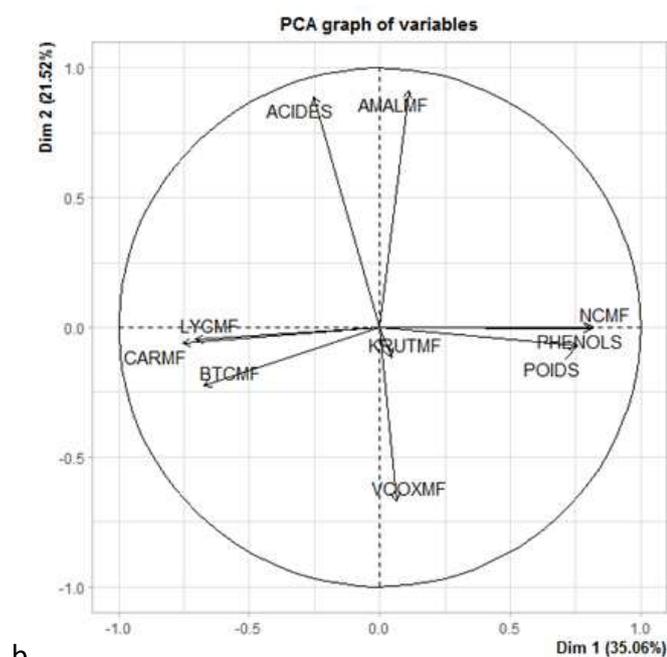
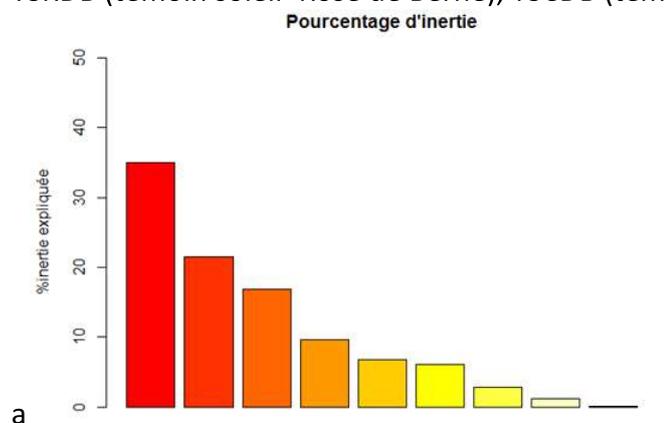


Annexe 3 : Pourcentage d'inertie (a), cercle de corrélations (b) projection des individus (c) pour les variables biochimiques selon le facteur variété. Les variétés sont codées comme suit : RDB (Rose de Berne) CDB (Coeur de Boeuf).



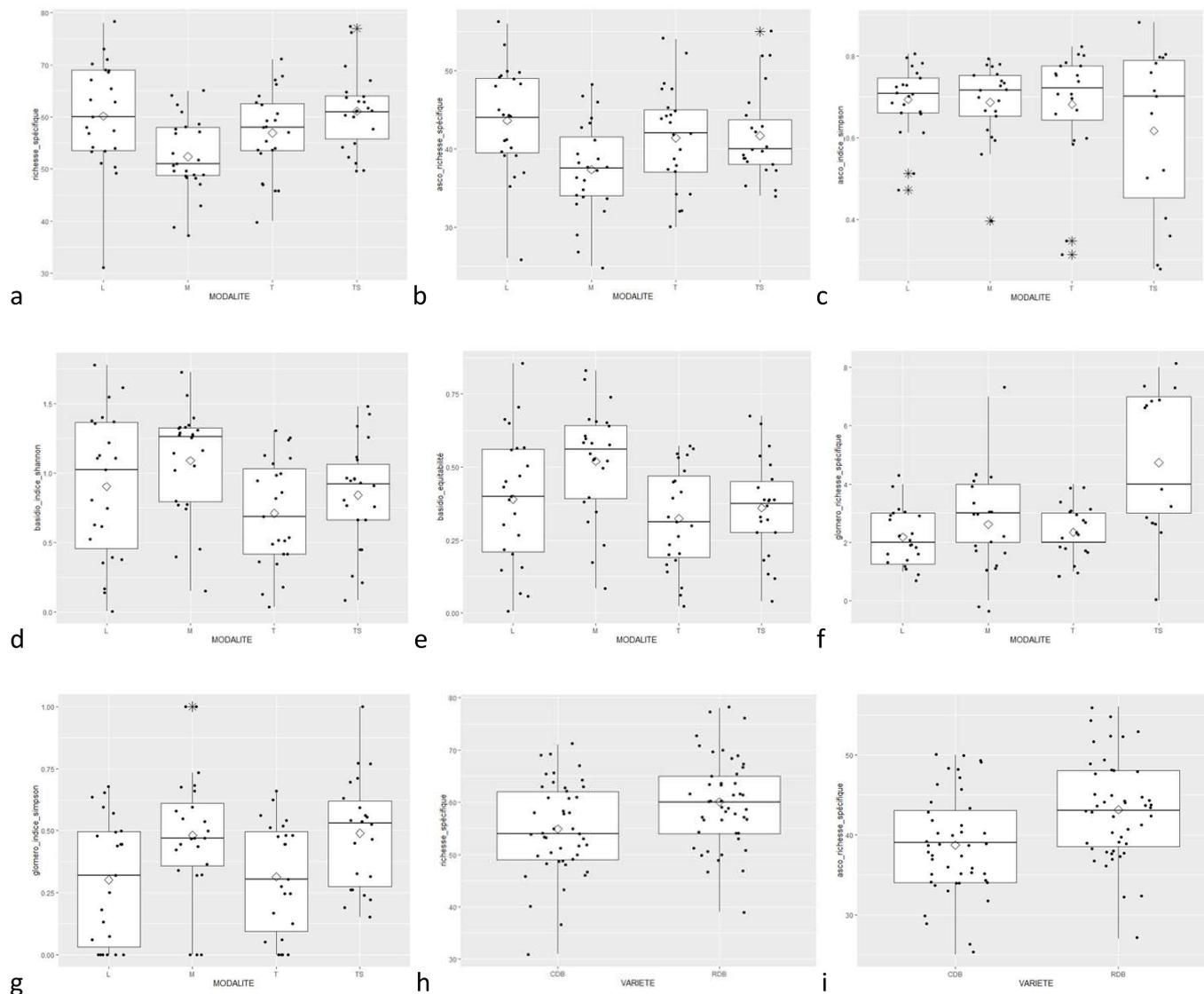


Annexe 4 : Pourcentage d'inertie (a), cercle de corrélations (b) projection des individus (c) pour les variables biochimiques selon l'interaction des facteurs modalité\*variété. Les interactions sont codées comme suit : LRDB (élagué\*Rose de Berne), LCDB (élagué\*Coeur de Boeuf), MRDB (émondé\*Rose de Berne), MCDB (émondé\*Coeur de Boeuf), TRDB (têtard\*Rose de Berne), TCDB (têtard\*Coeur de Boeuf), TSRDB (témoin soleil\*Rose de Berne), TSCDB (témoin soleil\*Coeur de Boeuf)



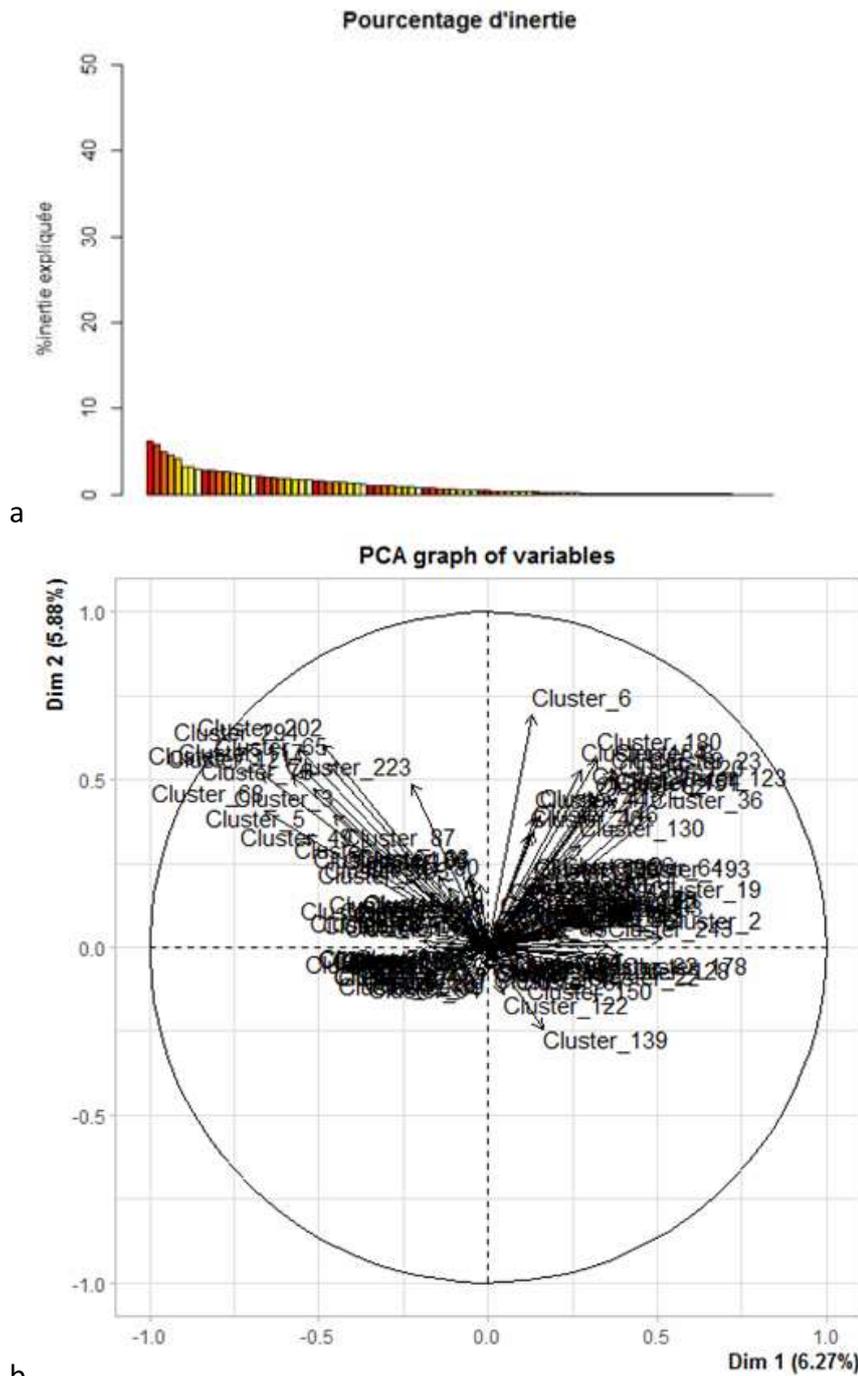


Annexe 5 : Histogrammes des indices de diversité à l'échelle des communautés des phyla selon l'effet qui leur est significatif (modalité ou variété)

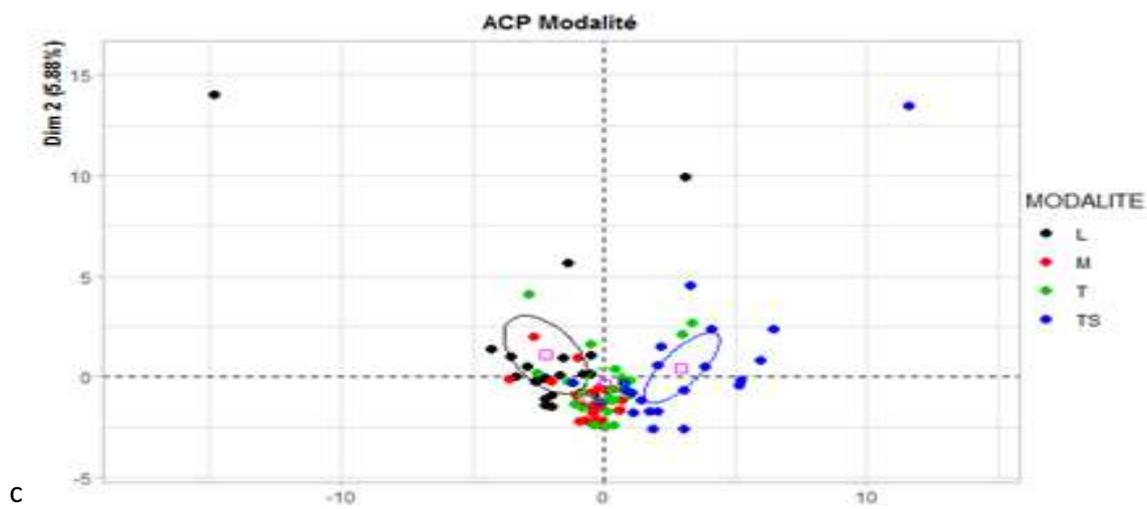




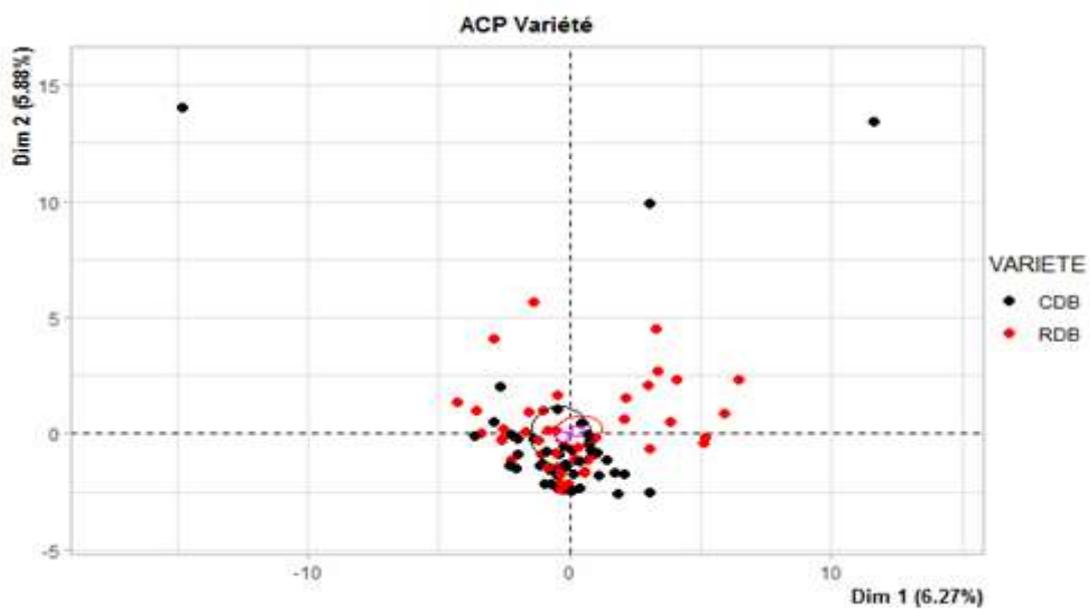
Annexe 6 : Pourcentage d'inertie (a), cercle de corrélations (b), projection individuelle selon (c) les modalités de taille, (d) les variétés et (d) l'interaction modalité\*variété de l'abondance des 131 clusters fongiques.



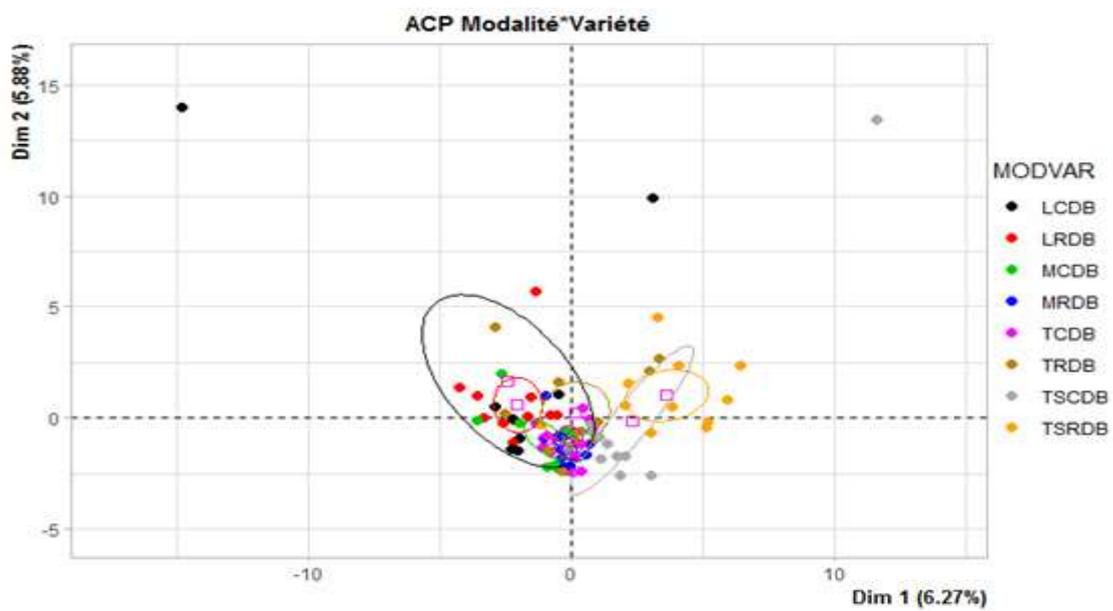




c



d



e

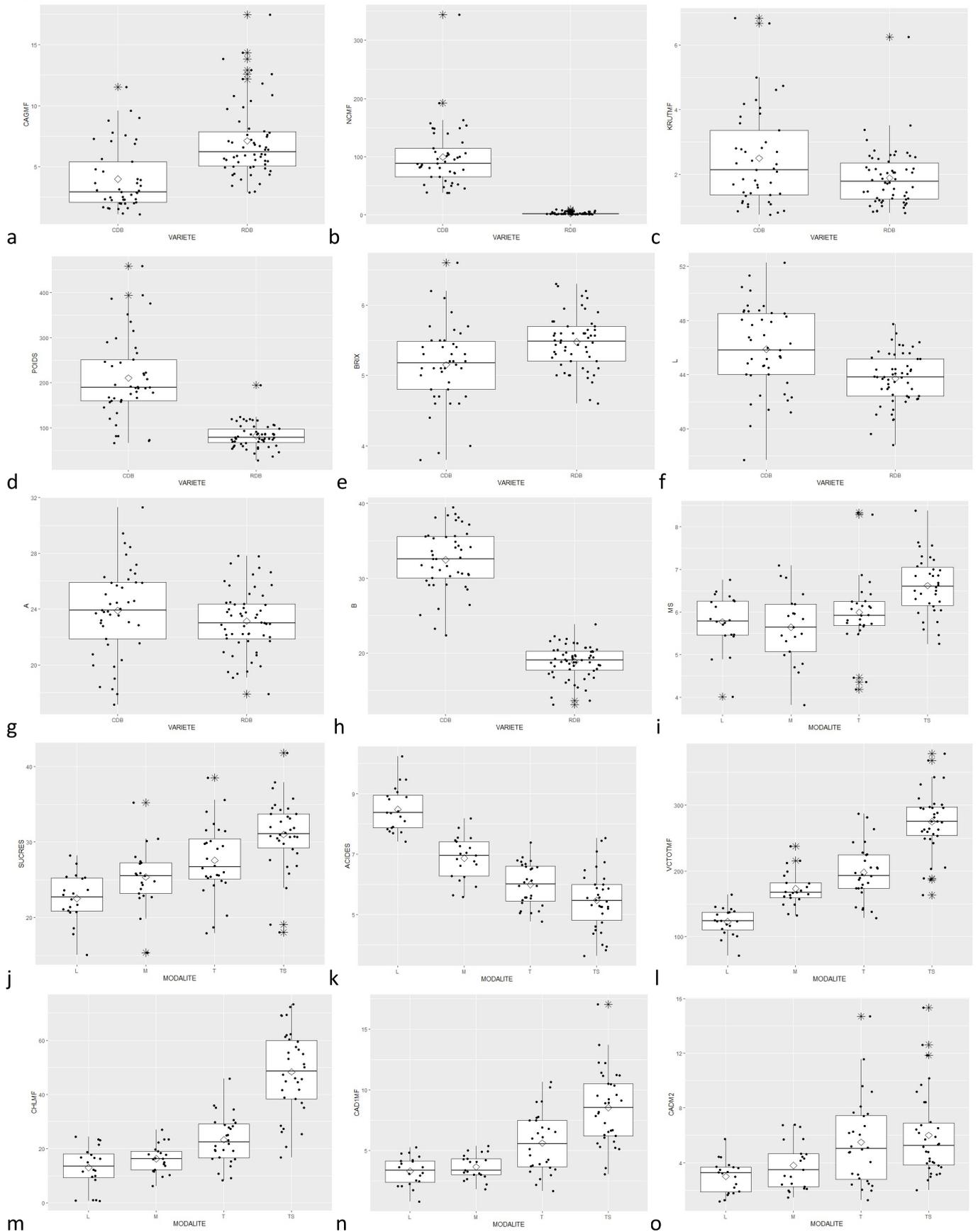


Annexe 7 : matrice des corrélations de Pearson entre indices de diversité des communautés fongiques et qualité biochimique des fruits. Les corrélations positives (>0,7) sont indiquées en vert, les négatives (>-0,7) en rouge.

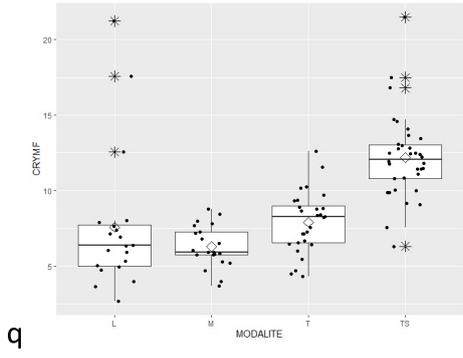
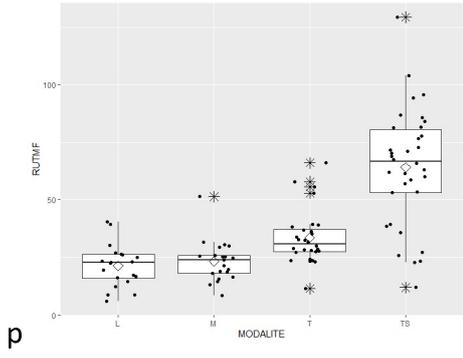
	Communauté				Ascomycètes				Basidiomycètes				Glomeromycètes			
	Richesse	Shannon	Equitabilité	Simpson	Richesse	Shannon	Equitabilité	Simpson	Richesse	Shannon	Equitabilité	Simpson	Richesse	Shannon	Equitabilité	Simpson
Matière sèche	0,61	0,58	0,40	-0,31	0,45	-0,07	-0,30	-0,61	0,52	-0,18	-0,27	-0,19	0,63	0,38	<b>-0,72</b>	0,45
Poids	-0,52	-0,29	-0,10	-0,64	<b>-0,71</b>	-0,36	0,04	-0,39	-0,35	-0,11	-0,05	-0,04	0,44	0,62	0,31	0,26
Brix	-0,32	-0,42	-0,36	0,08	-0,24	0,10	0,23	0,33	-0,24	0,43	0,43	0,39	-0,16	0,03	<b>-0,10</b>	0,58
L	0,04	0,32	0,38	-0,27	-0,07	0,00	0,03	-0,35	-0,01	-0,63	-0,58	-0,58	0,34	0,20	-0,01	-0,35
A	-0,49	-0,58	-0,49	-0,02	-0,37	-0,11	0,06	0,25	-0,35	-0,03	0,03	-0,01	-0,34	0,10	0,56	0,16
B	-0,50	-0,18	0,04	-0,39	-0,64	-0,22	0,13	-0,22	-0,35	-0,14	-0,09	-0,07	0,26	0,33	0,30	-0,06
Duröfel	0,34	0,29	0,22	0,60	0,47	0,36	0,08	0,37	0,30	-0,51	-0,56	-0,52	-0,40	-0,65	<b>-0,20</b>	<b>-0,76</b>
Sucres	0,30	0,56	0,53	-0,45	0,10	0,04	-0,01	-0,63	0,18	-0,23	-0,25	-0,22	<b>0,75</b>	0,53	<b>-0,73</b>	0,54
Glucose	0,25	0,51	0,48	-0,39	0,09	0,06	0,01	-0,55	0,12	-0,13	-0,14	-0,12	0,65	0,48	-0,64	0,55
Fructose	0,29	0,52	0,48	-0,55	0,07	-0,05	-0,08	<b>-0,71</b>	0,19	-0,19	-0,21	-0,18	<b>0,81</b>	0,62	-0,65	0,58
Saccharose	<b>0,73</b>	0,70	0,49	-0,34	0,51	-0,21	-0,46	<b>-0,75</b>	0,69	-0,17	-0,30	-0,17	<b>0,73</b>	0,35	<b>-0,74</b>	0,27
Acides	-0,01	-0,50	-0,60	0,54	0,20	-0,08	-0,19	0,61	0,16	0,20	0,14	0,16	<b>-0,75</b>	-0,58	0,46	-0,42
Acide citrique	0,03	-0,48	-0,60	0,56	0,25	-0,07	-0,21	0,61	0,19	0,20	0,14	0,16	<b>-0,76</b>	-0,59	0,45	-0,41
Acide malique	-0,19	-0,53	-0,54	0,44	-0,03	-0,09	-0,07	0,57	0,02	0,16	0,12	0,15	-0,65	-0,50	0,48	-0,44
Vitamine C (totale)	0,35	0,55	0,49	-0,57	0,12	-0,03	-0,08	<b>-0,72</b>	0,22	-0,26	-0,27	-0,26	<b>0,84</b>	0,62	-0,68	0,55
Vitamine C (réduite)	0,38	0,57	0,50	-0,55	0,16	0,00	-0,08	<b>-0,71</b>	0,24	-0,31	-0,32	-0,31	<b>0,83</b>	0,60	-0,69	0,52
Vitamine C (oxydée)	0,08	0,30	0,31	-0,64	-0,18	-0,21	-0,10	-0,70	0,06	0,15	0,13	0,17	<b>0,81</b>	0,70	-0,48	<b>0,73</b>
Composés phénoliques	-0,10	0,16	0,25	-0,61	-0,35	-0,35	-0,14	-0,64	0,06	-0,27	-0,30	-0,20	0,67	0,57	-0,13	0,16
Acide caféique glucoside	<b>0,84</b>	0,50	0,18	-0,24	0,69	-0,22	-0,57	<b>-0,57</b>	<b>0,80</b>	-0,10	-0,24	-0,14	0,52	0,27	-0,64	0,34
Acide chlorogénique	0,54	0,63	0,49	-0,54	0,29	-0,13	-0,27	<b>-0,79</b>	0,47	-0,27	-0,34	-0,27	<b>0,87</b>	<b>0,57</b>	<b>-0,76</b>	0,47
Dérivés acide caféique 1	0,49	0,64	0,53	-0,57	0,24	-0,11	-0,23	<b>-0,82</b>	0,38	-0,37	-0,41	-0,35	<b>0,86</b>	0,60	-0,66	0,42
Dérivés acide caféique 2	-0,14	0,25	0,36	-0,69	-0,38	-0,26	-0,05	<b>-0,71</b>	-0,12	-0,27	-0,24	-0,20	<b>0,72</b>	0,68	-0,08	0,27
Rutine	0,42	0,52	0,41	-0,69	0,11	-0,33	-0,36	<b>-0,91</b>	0,42	-0,17	-0,24	-0,15	<b>0,94</b>	<b>0,71</b>	-0,58	0,51
Naringenin chalcone	-0,50	-0,24	-0,03	-0,30	-0,61	-0,25	0,08	-0,15	-0,30	-0,12	-0,09	-0,04	0,15	0,25	0,35	-0,12
Acide cryptochlorogénique	0,63	0,54	0,32	-0,61	0,37	-0,33	-0,50	<b>-0,88</b>	0,58	-0,22	-0,30	-0,22	<b>0,85</b>	0,64	-0,55	0,47
Kaempferol rutinoside	0,05	-0,10	-0,17	-0,64	-0,19	<b>-0,80</b>	-0,66	<b>-0,72</b>	0,29	0,23	0,16	0,29	0,50	0,59	0,31	0,26
Caroténoïdes	0,47	0,64	0,55	-0,25	0,31	0,11	-0,04	-0,50	0,29	0,02	-0,02	0,00	0,63	0,29	<b>-0,79</b>	0,42
Lutéine	<b>0,84</b>	0,60	0,31	0,04	<b>0,77</b>	0,06	-0,34	-0,32	<b>0,72</b>	-0,13	-0,25	-0,18	0,34	-0,01	<b>-0,77</b>	0,17
Lycopène	0,21	-0,21	-0,40	-0,05	0,25	-0,37	-0,48	-0,07	0,21	0,47	0,46	0,44	-0,15	0,04	0,41	0,13
Béta-carotène	<b>0,83</b>	0,59	0,31	0,31	<b>0,87</b>	0,22	-0,24	-0,06	0,62	-0,10	-0,19	-0,17	0,03	-0,30	-0,59	-0,12
Phytoène	0,46	0,01	-0,25	0,09	0,54	-0,10	-0,38	0,00	0,36	0,18	0,14	0,11	-0,14	-0,05	0,03	0,17



Annexe 8 : Histogrammes représentant les variables physico-chimiques selon l'effet qui leur est le plus significatif







 	Diplôme : Ingénieure en Horticulture Spécialité : Sciences et Ingénierie du Végétal Spécialisation / option : Génétique et Amélioration des Plantes Enseignant référent : Anne LAPERCHE
Auteur(s) : Solène LEMICHEZ Date de naissance* : 09/02/1997	Organisme d'accueil : UMR BAGAP, INRAE Adresse : Domaine de la Motte au Vicomte, BP35327, 35653 Le Rheu
Nb pages : 23                      Annexe(s) : 8	Maître de stage : Véronique CHABLE
Année de soutenance : 2020	
Titre français : Comprendre le performances et l'adaptation de deux variétés populations de tomate ( <i>S. lycopersicum</i> ) dans un système agroforestier via l'étude du microbiome racinaire dans le cadre d'une recherche participative.  Titre anglais : Understanding the performance and adaptation of two population varieties of tomato ( <i>S. lycopersicum</i> ) in an agroforestry system through the study of the root microbiome in the framework of participatory research.	
Résumé (1600 caractères maximum) : Dans le cadre du projet européen LIVESEED, cette étude a pour objectif d'établir l'influence du type de taille appliquée aux arbres dans un système agroforestier et de la variété de tomate cultivée sur la composition du microbiome racinaire de la tomate, ainsi que l'effet de la structuration du microbiome sur la qualité physico-biochimique des tomates. Les résultats montrent un effet de la taille des arbres sur le profil biochimique des tomates, qui possèdent des quantités plus importantes de sucres, vitamine C et composés phénoliques dans le milieu témoin non agroforestier, et des concentrations plus importantes en acides sous l'ombrage des arbres. Les deux variétés de tomates testées (rose de Berne et Coeur de Boeuf) présentent des profils biochimiques différents, résultant d'une sélection paysanne. Les communautés fongiques sont peu influencées par la variété de tomate mais révèlent des assemblages différents selon l'intensité de coupe des arbres, aussi bien à l'échelle des communautés que des phyla (Ascomycètes, Basidiomycètes et Gloméromycètes). Ces différenciations sont expliquées d'un point de vue écologique afin d'amener à une meilleure compréhension des interactions plante/micro-organismes dans les systèmes agroforestiers. Les corrélations entre la qualité physico-biochimique des fruits et la structuration du mycobiome montrent une incidence de la diversité des Ascomycètes et de la richesse spécifique des Gloméromycètes sur le profil biochimique des tomates. Les résultats sont discutés sous l'hypothèse holobionte et son influence sur l'amélioration des plantes, en lien avec la sélection paysanne.	
Abstract (1600 caractères maximum) : Within the framework of the European project LIVESEED, this study aims at establishing the influence of the type of pruning applied to trees in an agroforestry system and of the grown variety of tomato on the composition of the tomato root microbiome, as well as the effect of the microbiome's structuration on the physical-biochemical quality of tomatoes. The results show an effect of pruning intensity on the biochemical profile of tomatoes, which have higher amounts of sugars, vitamin C and phenolic compounds in the non agroforestry control environment, and higher concentrations of acids under tree shade. The two tomato varieties tested (Rose de Berne and Coeur de Boeuf) have different biochemical profiles, resulting from farmer selection. The fungal communities are little influenced by the tomato variety but reveal different assemblages depending on the intensity of tree pruning, both at the community and phyla levels (Ascomycetes, Basidiomycetes and Glomeromycetes). These differentiations are explained from an ecological point of view in order to lead to a better understanding of plant-microorganism interactions in agroforestry systems. The correlations between the physico-biochemical quality of the fruits and the structuration of the mycobiome show an impact of the diversity of Ascomycetes and the specific richness of Glomeromycetes on the biochemical profile of tomatoes. The results are discussed under the holobionte hypothesis and its influence on plant breeding, in connection with on-farm selection.	
Mots-clés : microbiome, agroforesterie, tomate, recherche participative, sélection paysanne, holobionte, amélioration des plantes, profil biochimique  Key Words: microbiome, agroforestry, tomato, participatory research, on-farm selection, holobiont, plant breeding, biochemical profile	

\* Élément qui permet d'enregistrer les notices auteurs dans le catalogue des bibliothèques universitaires